



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

FACTORES PREDICTIVOS DE LA FUNCIÓN FACIAL TRAS LA CIRUGÍA DEL SCHWANNOMA VESTIBULAR

Laura del Río Arroyo

Tesis Doctoral

Madrid 2009



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

**FACTORES PREDICTIVOS DE LA FUNCIÓN FACIAL
TRAS LA CIRUGÍA DEL SCHWANNOMA
VESTIBULAR**

TESIS DOCTORAL

DOCTORANDO

Laura del Río Arroyo

DIRECTORES

Dr. Luis Lassaletta Atienza

Prof. Javier Gavilán Bouzas

Madrid, 2009

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Javier Gavilán, Jefe de Servicio de Otorrinolaringología del Hospital La Paz y Director de esta tesis, por su paciencia, su cercanía y su ejemplo. Sin su esfuerzo de muchos años por atender a los pacientes con schwannoma vestibular, esta tesis no podría haberse planteado.

Al Dr. Luis Lassaletta, Director de esta tesis, por su contagioso entusiasmo por la Ciencia, su estímulo constante y su inagotable capacidad de trabajo. A su empuje e influencia debo mis primeros pasos en la investigación, y también los siguientes.

A todos mis compañeros del Servicio de Otorrinolaringología, porque les debo todo lo que soy como profesional, parte de lo que soy como persona, y mucha de la alegría con la que voy a trabajar cada día.

A las Dras. Mercedes Patrón, de Anatomía Patológica, Rosario Madero, de Estadística, y al Dr. Rey, de Oncogenética Molecular, por su colaboración desinteresada y su disponibilidad para adaptarse a mis problemas de horario. Sin su aportación, esta tesis no existiría.

A mis residentes mayores, Alejandro y Rosa, que con su ejemplo me enseñaron el sacrificio y la satisfacción que supone el trabajo bien hecho. A Alejandro, por su ayuda con las cuestiones informáticas, y por no dejarme nunca desfallecer ante las desilusiones del trabajo del día a día.

A mi familia y a mis amigos, sin cuyo apoyo no habría llegado a leer esta tesis, y sin cuyo cariñoso orgullo, leerla tendría menos significado. En especial, a Juan, mi marido, a quien le debo más de lo que pueden expresar las palabras, y a mi abuelo Julián, que siempre creyó en mí.

Finalmente, a los pacientes, que son quienes dan sentido a esta tesis, a mi trabajo y a parte importante de mi vida.

“It is a mistake to look too far ahead. Only one link in the chain of destiny can be handled at a time.” (Winston Churchill)

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	10
1. Qué son los schwannomas vestibulares	10
2. Características clínicas	11
2.1. Asintomáticos	11
2.2. Hipoacusia	12
2.3. Sordera súbita	12
2.4. Acúfeno	13
2.5. Síntomas vestibulares periféricos	14
2.6. Parálisis facial	14
2.7. Otros síntomas	14
2.8. Disociación clínica-tamaño tumoral	15
3. Histología	16
4. Tratamiento.....	18
4.1. Selección del tratamiento. Evidencia científica	18
4.2. Radiocirugía.....	18
4.3. Observación.....	20
4.4. Cirugía. Abordajes quirúrgicos	20
5. Función facial y cirugía del schwannoma vestibular	24
5.1. Introducción	24
5.2. Factores conocidos que influyen en la función facial postquirúrgica	24
6. Factores moleculares en el schwannoma vestibular.....	25
6.1. El gen NF2.....	25
6.1.1. Generalidades.....	25
6.1.2. Mecanismos de inactivación del gen NF2	26
6.1.2.1. Mutaciones	26
6.1.2.2. Otros	27
6.2. Merlin.....	28
6.2.1. Supresor tumoral	29
6.2.2. Señalización celular	29
6.3. Otros genes estudiados en el schwannoma vestibular	30

6.4. Marcadores inmunohistoquímicos de crecimiento en el schwannoma vestibular.....	32
6.5. Ciclina D1.....	32
JUSTIFICACIÓN.....	35
HIPÓTESIS	37
OBJETIVOS	38
MATERIAL Y MÉTODOS.....	39
1. Criterios de inclusión y exclusión.....	39
1.1. Criterios de inclusión	39
1.2. Criterios de exclusión.....	39
2. Factores demográficos	39
3. Factores clínicos	40
3.1. Motivo de consulta	40
3.2. Función facial.....	40
3.3. Audición	41
4. Factores radiológicos.....	42
4.1. Lado del tumor	42
4.2. Localización del tumor	42
4.3. Tamaño tumoral	42
5. Factores quirúrgicos	45
5.1. Abordaje.....	45
5.2. Criterios de selección de abordaje	45
6. Factores electrofisiológicos	45
6.1. Monitorización del nervio facial.....	45
6.2. Estimulación del nervio facial al final de la cirugía.....	47
7. Factores anatomopatológicos	48
7.1. Tipo histológico	48
7.2. Cambios degenerativos.....	49
7.2.1. Nucleares.....	49
7.2.2. Citoplasmáticos	49

8. Factores moleculares.....	50
8.1. Ciclina D1.....	50
9. Análisis univariante	52
10. Análisis multivariante	53
RESULTADOS.....	54
1. Factores demográficos	54
2. Factores clínicos	54
2.1. Motivo de consulta	54
2.2. Función facial.....	54
2.2.1. Preoperatoria	54
2.2.2. Postoperatoria inmediata	55
2.2.3. Postoperatoria al alta.....	55
2.2.4. Postoperatoria al año	56
2.3. Audición	56
3. Factores radiológicos.....	57
3.1. Lado del tumor	57
3.2. Localización del tumor	58
3.3. Tamaño tumoral	58
4. Factores quirúrgicos	59
5. Factores electrofisiológicos	60
5.1. Estimulación del nervio facial al final de la cirugía.....	60
6. Factores anatomopatológicos	61
6.1. Tipo histológico	61
6.2. Cambios degenerativos.....	62
6.2.1. Nucleares.....	62
6.2.2. Citoplasmáticos	62
7. Factores moleculares.....	63
7.1. Ciclina D1.....	63
8. Análisis univariante	64
8.1. Factores demográficos y función facial postoperatoria	64
8.2. Factores clínicos y función facial postoperatoria	64
8.2.1. Función facial preoperatoria y función facial postoperatoria	64

8.2.2. Función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva .	64
8.2.3. Audición y función facial postoperatoria	65
8.3. Factores radiológicos y función facial.....	66
8.3.1. Lado del tumor y función facial.....	66
8.3.2. Localización del tumor y función facial	66
8.3.3. Tamaño tumoral y función facial	66
8.4. Factores quirúrgicos y función facial	68
8.5. Factores electrofisiológicos y función facial	68
8.6. Factores anatomopatológicos y función facial	69
8.7. Expresión de ciclina D1 y función facial	70
9. Análisis multivariante	71
DISCUSIÓN	74
1. Evaluación de la función facial.....	74
2. Resultados de función facial postoperatoria	76
3. Factores predictivos	78
3.1. Factores demográficos.....	78
3.2. Factores clínicos	79
3.2.1. Tamaño tumoral	79
3.2.2. Función facial preoperatoria	80
3.2.3. Audición.....	81
3.2.4. Abordaje quirúrgico	83
3.3. Factores electrofisiológicos.....	84
3.4. Factores anatomopatológicos.....	86
3.5. Factores moleculares. Expresión de ciclina D1	87
3.5.1. Regulación de la expresión de ciclina D1	89
3.5.2. Merlin y ciclina D1.....	89
3.5.3. Expresión diferencial de ciclinas según el tipo celular.....	90
3.5.4. Ciclina D1 y ciclo celular en células neurales	90
3.5.5. Ciclina D1 y schwannoma vestibular.....	92
3.5.6. Ciclina D1 y otros tumores	93
3.5.7. Ciclina D1 en otros campos de la Medicina	97
3.5.8. Ciclina D1 en nuestro estudio.....	98

CONCLUSIONES.....	103
ANEXOS.....	105
BIBLIOGRAFÍA	107

INTRODUCCIÓN

1. Qué son los schwannomas vestibulares

Los schwannomas vestibulares son tumores benignos que se originan en las células de Schwann de los nervios vestibular superior o inferior. Se denominan también neurinomas del acústico, pero el término más correcto es el de schwannoma vestibular, puesto que están formados por células de Schwann y proceden con mayor frecuencia de la porción vestibular que de la acústica del VIII par craneal. Suelen originarse en el conducto auditivo interno. La literatura médica no se pone de acuerdo acerca de si estos tumores se originan con más frecuencia en el nervio vestibular superior o inferior¹.

Los schwannomas vestibulares se clasifican clínicamente como esporádicos, o asociados a la neurofibromatosis tipo 2 (NF2).

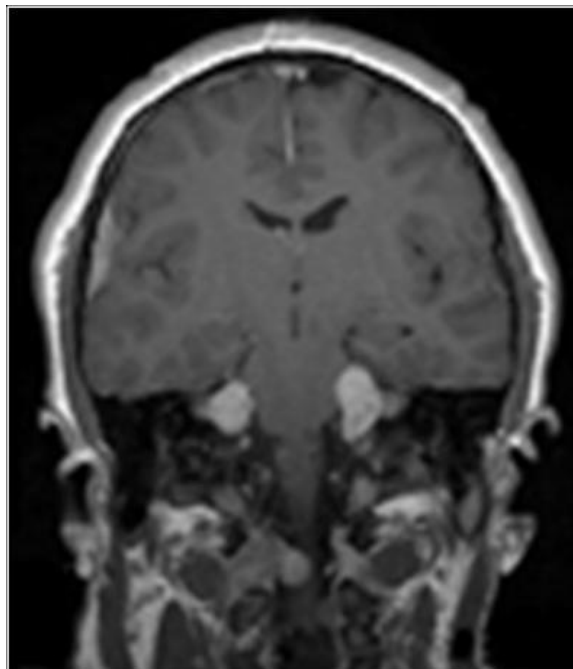


Foto 1. Resonancia magnética con gadolinio (corte coronal) que muestra schwannomas vestibulares bilaterales en un paciente con NF2

Los schwannomas vestibulares son los tumores más frecuentes del ángulo pontocerebeloso, donde suponen el 90% de los tumores y representan el 10% de los tumores cerebrales. Son más frecuentes en mujeres y generalmente comienzan a manifestarse clínicamente entre los 35 y los 45 años. Son tumores relativamente raros; aparecen en 1 de cada 20.000-100.000 personas al año, y crecen aproximadamente entre 1 y 2 mm/año^{1,2}. En las estadísticas recientes se observa un incremento de la incidencia debido al uso frecuente de técnicas más sensibles de resonancia magnética nuclear (RNM), que permiten el diagnóstico de tumores muy pequeños.

2. Características clínicas

La hipoacusia y el acúfeno son los motivos de consulta más frecuentes de los pacientes con schwannoma vestibular, aunque un número importante de ellos son asintomáticos.

2.1. Asintomáticos

Debido al crecimiento lento de la mayoría de los tumores y al uso extendido de la resonancia magnética, que adelanta en muchos casos el diagnóstico, cada vez son más frecuentes los hallazgos incidentales de schwannoma vestibular en pacientes asintomáticos. Por este motivo, ha aumentado el número de estudios sobre schwannomas en pacientes con audición normal³⁻⁵. Dependiendo de los criterios que se establezcan para definir la normalidad en la audición, la cifra de pacientes con schwannoma sin alteración auditiva puede variar significativamente. En nuestro estudio del 2006⁶, un 10% de los pacientes presentaban una audición normal considerando como tal un umbral en la audiometría tonal liminar inferior a 25 dB. Sin

embargo, esta cifra descendía a un 2,5% si se definía la normalidad siguiendo los criterios más estrictos de Magdziarz⁵. Esta cifra coincide con la publicada por este autor, en cuyo trabajo el 2,7% de los pacientes cumplían todos los criterios.

2.2. Hipoacusia

La hipoacusia ocasionada por el schwannoma es tradicionalmente neurosensorial, progresiva, retrococlear, con mayor afectación de la discriminación verbal que la audiometría tonal, en la que predomina la pérdida de audición en las frecuencias agudas. En un estudio que realizamos en 2006⁶, la frecuencia más afectada fue 8000 Hz. En cambio, la mayor caída en la diferencia interaural se encontró a 4000 Hz, lo que concuerda con los resultados del estudio de Harner⁷. El cálculo de la diferencia interaural corrige el efecto de la edad sobre la audiometría, y por eso concluimos que la frecuencia más afectada en el NA es 4000 Hz.

2.3. Sordera súbita

Diversos autores⁸⁻¹¹ han estudiado la asociación entre sordera súbita y schwannoma vestibular. En la literatura, se ha advertido que los pacientes que presentan sordera súbita causada por un schwannoma vestibular muestran tendencia a recuperar con más frecuencia la audición tras el tratamiento. En la práctica otorrinolaringológica habitual se realiza una RMN a todo paciente que presente un episodio de estas características, independientemente de que recupere la audición o no. En el estudio mencionado⁶ encontramos una prevalencia de sordera súbita de 9% entre los pacientes diagnosticados de schwannoma, que se encuentra dentro del rango de 3 a 23% publicado en la literatura. Sauvaget y cols¹² describen una prevalencia de 20% en un estudio de 139 pacientes. Al igual que nosotros, encontraron una relación inversa

significativa entre sordera súbita y tamaño tumoral. Aunque no se ha descrito una asociación significativa entre sordera brusca e invasión del conducto auditivo interno, sí que se observa que en su mayoría, los tumores que producen dicho cuadro tienen un componente intracanalicular. Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la sordera súbita en el schwannoma. El más aceptado es el compromiso vascular del oído interno, aunque se han propuesto también posibles cambios bioquímicos en la endolinfa o compresión por el tumor, que parece menos probable por la relación inversa entre la sordera y el tamaño tumoral. No se ha encontrado un patrón audiométrico específico de schwannoma en la sordera brusca, por lo que es aconsejable descartarlo ante todo paciente con sordera súbita.

2.4. Acúfeno

En muchas ocasiones es el primer síntoma. Entre el 45% y el 75% de los pacientes presentan acúfenos antes de la cirugía¹³⁻¹⁶, aunque la etiopatogenia de este síntoma no está clara. Según la teoría de Möller¹⁷, el acúfeno en el schwannoma vestibular se debe a la reorganización neural de los centros auditivos superiores, especialmente los corticales, motivada por la actividad anómala en el nervio auditivo afectado por el schwannoma. Esto explicaría la persistencia del acúfeno en algunos pacientes tras la exéresis del tumor y la sección del VIII par craneal: el acúfeno no se origina en el nervio, si no en los centros superiores que se dejan intactos en la cirugía. La relación entre acúfeno preoperatorio y otras características demográficas y clínicas ha sido poco estudiada. Andersson, Myrseth y Baguley^{13,14,18} no encontraron asociación entre acúfeno prequirúrgico y edad, sexo, tamaño tumoral o umbrales auditivos en

pacientes intervenidos de schwannoma vestibular. La evolución del acúfeno tras el tratamiento quirúrgico del schwannoma vestibular es impredecible.

2.5. Síntomas vestibulares periféricos

El vértigo periférico es raro, debido a que el lento crecimiento del tumor permite la compensación central del déficit vestibular periférico por compresión. Son más habituales los mareos, los trastornos leves del equilibrio o el vértigo leve y transitorio al levantarse o al cambiar de postura. En algún caso la clínica puede simular una enfermedad de Menière o un vértigo posicional paroxístico benigno.

En muchos casos aparece una arreflexia o hiporreflexia del lado afecto en las pruebas calóricas¹⁹.

2.6. Parálisis facial

El nervio facial está afectado en el 75% de los casos en el momento del diagnóstico¹⁹, como paresia leve, parestesias en la hemicara ipsilateral al tumor, o de forma subclínica, únicamente detectable en estudios electrofisiológicos. No obstante, la parálisis facial clínica es poco frecuente.

2.7. Otros síntomas

Los pacientes con tumores grandes presentan alteración del reflejo corneal o hipoestesia facial periorbitaria como consecuencia de la afectación del V par craneal por compresión. Sólo en el 10% de los pacientes, con tumores muy avanzados, hay alteraciones derivadas de la lesión de los pares craneales IX, X y XI.

Cuando el tumor crece aún más, comprime el tronco del encéfalo y el cerebelo, distorsionando el sistema vestibular central y la función cerebelosa. El nistagmo

espontáneo, que al principio de la enfermedad es de tipo vestibular, hacia el lado opuesto al tumor, cambia para convertirse en un nistagmo central, de reojo en todas las direcciones de la mirada o en ocasiones vertical. El nistagmo optocinético a ambos lados disminuye por paresia oculomotora. En estadios finales, además de esta alteración vestibular central, puede aparecer un síndrome cerebeloso con ataxia, palabra escandida, alteraciones del tono muscular, dismetría, disdiadococinesia y temblor intencional. Finalmente, si el tumor obstruye la circulación de líquido cefalorraquídeo, produce hidrocefalia e hipertensión intracraneal, con cefalea, náuseas, vómitos y por último, obnubilación, coma y muerte por enclavamiento o herniación del tronco del encéfalo.

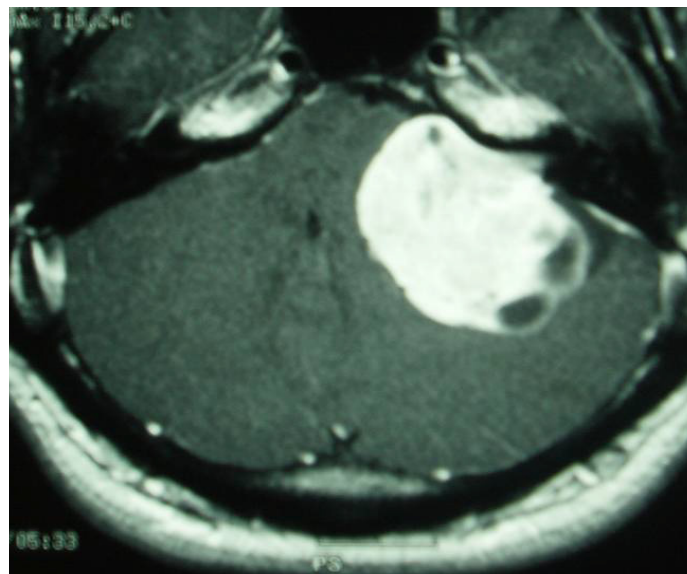


Foto 2. Corte axial de una RMN con gadolinio que muestra un gran schwannoma vestibular izquierdo

2.8. Disociación clínica-tamaño tumoral

Diversos autores han reseñado la falta de correlación entre la clínica y el tamaño tumoral, que tradicionalmente se ha medido como máximo diámetro en la RNM^{20,21}.

Se han propuesto diversos mecanismos fisiopatológicos por los cuales el schwannoma vestibular produciría hipoacusia. Parece razonable imaginar que la afectación del nervio auditivo pudiera ser debida a la compresión tumoral. Dicha compresión sería mayor cuanto más grande fuera el schwannoma. En nuestro estudio⁶ no encontramos una relación significativa entre hipoacusia y diámetro máximo del tumor. Estos resultados concuerdan con los de otras series de schwannomas, por lo que en la literatura suele hablarse de disociación entre tamaño y clínica como un rasgo típico del schwannoma vestibular^{20,21}. De forma similar, en nuestro estudio, la afectación de otros dos pares craneales anatómicamente próximos al nervio vestibular, como son el nervio facial y el trigémino, tampoco pudo explicarse por la compresión tamaño-dependiente de los mismos, puesto que un mayor diámetro tumoral no se relacionó significativamente con mayor grado de parálisis facial ni con ausencia de reflejo corneal.

En el mismo estudio, empleando volumen en lugar de diámetro máximo como medida del tamaño tumoral, aumentó ligeramente la relación del tamaño con la función facial y el grado de hipoacusia prequirúrgicos. Por tanto, si bien la determinación del volumen tumoral es más sensible que el diámetro máximo, no modifica el hecho de que la clínica producida por el schwannoma es independiente del tamaño del mismo, medido como diámetro o como volumen.

3. Histología

El schwannoma vestibular presenta las características de las células de Schwann y muestra áreas tipo A y tipo B de Antoni. Las áreas tipo A de Antoni están formadas por

células en forma de huso estrechamente agrupadas con núcleos en empalizada. Los cuerpos de Verocay, que pueden estar presentes en las zonas tipo A de Antoni, son formaciones espirales de células tumorales en empalizada que recuerdan a corpúsculos táctiles. No obstante, las células en forma de huso pueden no presentar núcleos en empalizada ni cuerpos de Verocay. El grado de celularidad del schwannoma vestibular puede ser alto o bajo. Las células en forma de huso son con frecuencia algo pleomórficas, pero rara vez presentan figuras mitóticas. La presencia de pleomorfismo no significa malignidad²².

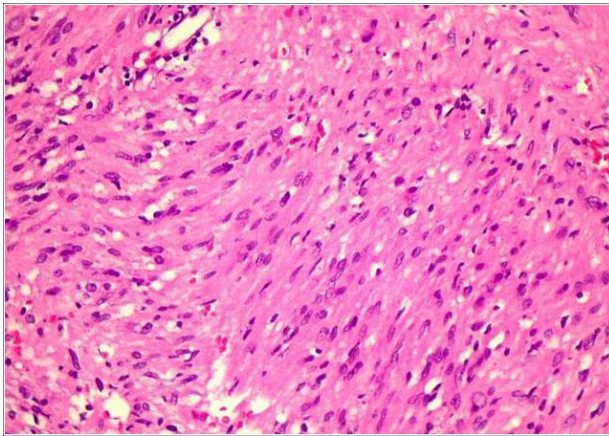


Foto 3. Muestra histológica de schwannoma vestibular preparada con hematoxilina-eosina que presenta las características típicas del tejido tipo A de Antoni

Las áreas B de Antoni, que son posiblemente una forma degenerativa del patrón A de Antoni, muestran un patrón reticular laxo, en ocasiones con proliferación histiocítica²².

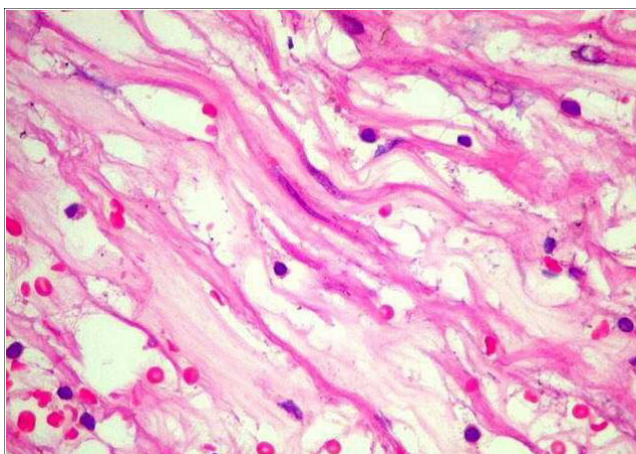


Foto 4. Muestra histológica de schwannoma vestibular preparada con hematoxilina-eosina que presenta las características típicas del tejido tipo B de Antoni

4. Tratamiento

La primera consideración que se debe tener presente en el tratamiento del schwannoma vestibular es que es un tumor histológicamente benigno, pero que dejado a su evolución crece lenta pero inexorablemente hasta comprometer la vida del paciente por distorsión del tronco cerebral, alteración de su irrigación y desarrollo de hidrocefalia obstructiva e hipertensión intracraneal.

4.1. Selección del tratamiento. Evidencia científica

En la actualidad existen tres opciones de tratamiento: la exéresis quirúrgica, la radiación estereotáxica o la observación del tumor. Cada opción de tratamiento tiene sus ventajas y sus inconvenientes. La decisión se basa en las preferencias del paciente y los hallazgos de los estudios observacionales. No se ha realizado ningún ensayo clínico aleatorizado y controlado que informe objetivamente de los resultados de las distintas opciones terapéuticas. En consecuencia, la toma de decisiones es difícil y sujeta a opiniones posiblemente sesgadas más que basada en la evidencia.

4.2. Radiocirugía

En los últimos 20 años, la radiocirugía se ha empleado en el tratamiento del schwannoma vestibular como una alternativa menos invasiva al tratamiento quirúrgico. Algunos autores lo consideran la primera opción para tumores menores de 3 cm^{23,24}. De hecho, intentando paliar la falta de evidencia científica antes mencionada, Pollock²⁵ realiza una comparación entre la resección quirúrgica y la radiocirugía estereotáxica basándose en estudios recientes y empleando los criterios

de la Medicina Basada en la Evidencia (Anexos I y II). El nivel 1 de evidencia se obtiene con ensayos clínicos aleatorizados, mientras que los niveles 2, 3, 4 y 5 se refieren a estudios prospectivos de cohortes, series de casos y controles, series de casos y opiniones de expertos, respectivamente. La gran mayoría de estudios sobre el tratamiento del schwannoma vestibular son o series retrospectivas de casos u opiniones (evidencia nivel 4 o 5). Cinco series retrospectivas de casos y controles (evidencia nivel 3) han mostrado mejores resultados en cuanto a función de pares craneales, relación coste-efectividad e impacto en las actividades de la vida diaria de los pacientes con la radiocirugía. Un estudio prospectivo de cohortes (evidencia nivel 2) encontró mejores resultados en pacientes tratados con radiocirugía que en los intervenidos quirúrgicamente, en cuanto a función facial, preservación de la audición y calidad de vida. No se ha realizado ningún ensayo clínico aleatorizado que compare ambas técnicas. En conclusión, la mejor calidad de evidencia (niveles 2 y 3) muestra mejores resultados en los pacientes con schwannoma vestibular tratados con radiocirugía estereotáxica que en los tratados con cirugía, lo que supone un grado B de recomendación (recomendación favorable) para la radiocirugía. Pollock concluye que salvo que el seguimiento a largo plazo muestre con frecuencia progresión tumoral a las dosis de radiación empleadas actualmente, la radiocirugía debe considerarse la mejor estrategia de tratamiento para la mayoría de los pacientes con schwannoma vestibular.

No obstante, conviene recordar que con este método no se cura ningún tumor; el objetivo del tratamiento es lograr controlar el crecimiento tumoral, mientras que el de la cirugía es la extirpación completa del tumor. Por tanto, ambos tratamientos no son directamente comparables, dado que persiguen distintas finalidades. Es por ello que,

para otros autores², la radioterapia-radiocirugía está indicada sólo excepcionalmente en pacientes ancianos o en pacientes cuyo estado general no permita la resección radical y la cura de este tumor benigno.

4.3. Observación

En estudios de seguimiento a largo plazo de schwannomas vestibulares no intervenidos ni radiados se ha observado que algunos schwannomas no crecen o crecen muy despacio a lo largo de los años, aunque no se conoce la velocidad de crecimiento de los schwannomas, ni hay actualmente forma de predecir qué schwannomas crecerán y cuáles no.

La observación con resonancias magnéticas seriadas se indica en pacientes asintomáticos o poco sintomáticos, con tumores pequeños, especialmente si la edad del paciente es avanzada. Esta opción también está indicada siempre que el paciente, una vez informado de las distintas alternativas, la elija.

4.4. Cirugía. Abordajes quirúrgicos

La resección quirúrgica radical del schwannoma vestibular en un solo tiempo quirúrgico ha sido considerada tradicionalmente el tratamiento de elección en la mayoría de los casos. El planteamiento de la cirugía del schwannoma vestibular ha experimentado un importante cambio a lo largo de su historia. A principios del siglo XX, se consideraba una intervención a vida o muerte sobre lo que solía ser un gran tumor. Dandy y Cushing describieron resecciones totales y subtotales, respectivamente, de estos grandes schwannomas vestibulares. La llegada de técnicas de neuroimagen precisas y el uso del microscopio quirúrgico facilitaron una cirugía más meticulosa en lesiones de tamaño mucho menor. La mortalidad disminuyó, y la

complicación más temida pasó a ser la morbilidad asociada a la lesión del nervio facial. El primer caso descrito de cirugía del schwannoma vestibular con preservación del facial fue publicado por Cairns en 1931²⁶. El paciente recuperó la función facial en el postoperatorio.

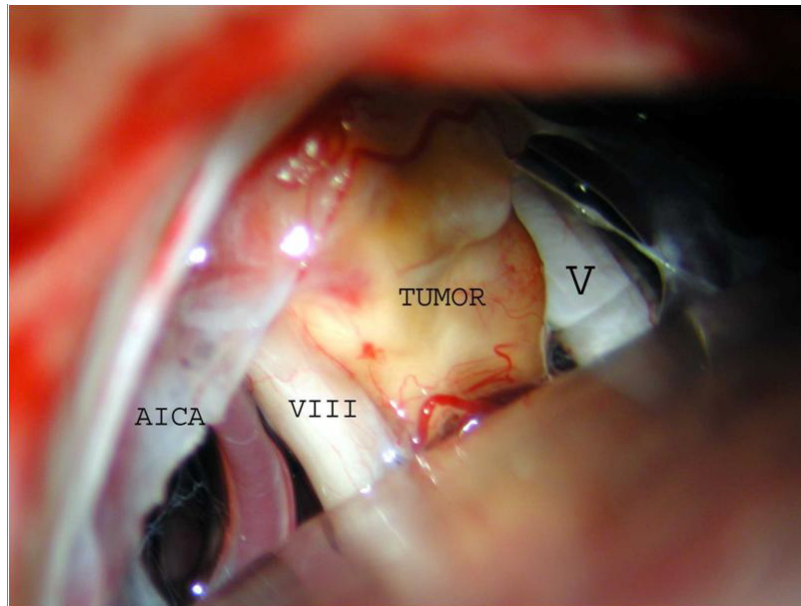


Foto 5. Imagen quirúrgica de un schwannoma vestibular izquierdo (VIII: nervio vestíbulo-coclear; V: nervio trigémino; AICA: arteria cerebelosa anteroinferior)

Los principales objetivos de la cirugía incluyen la excisión completa de la lesión en una etapa, sin mortalidad y con preservación de la función neurológica, especialmente del VII y VIII pares craneales. Hay tres vías de abordaje principales: retrosigmoidea-transmeatal, que supone una adaptación de la vía suboccipital clásica, translaberíntica y fosa media o transtemporal. Cada una tiene sus ventajas e inconvenientes, y con las tres se han publicado resultados excelentes.

La vía translaberíntica sacrifica la audición, por lo que suele preferirse en pacientes con audición no útil o en tumores en los que por su tamaño o localización la

probabilidad de preservar la audición es muy baja o nula. Tiene la ventaja de que no retrae apenas el cerebelo, por lo que puede realizarse en pacientes de edad avanzada. Permite controlar el ángulo pontocerebeloso y el conducto auditivo interno en la totalidad de su recorrido. Según Fagan²⁷ ofrece un campo quirúrgico más amplio y menor retracción del cerebelo a través de una craneotomía del mismo tamaño que la realizada en la vía retrosigmoidea.

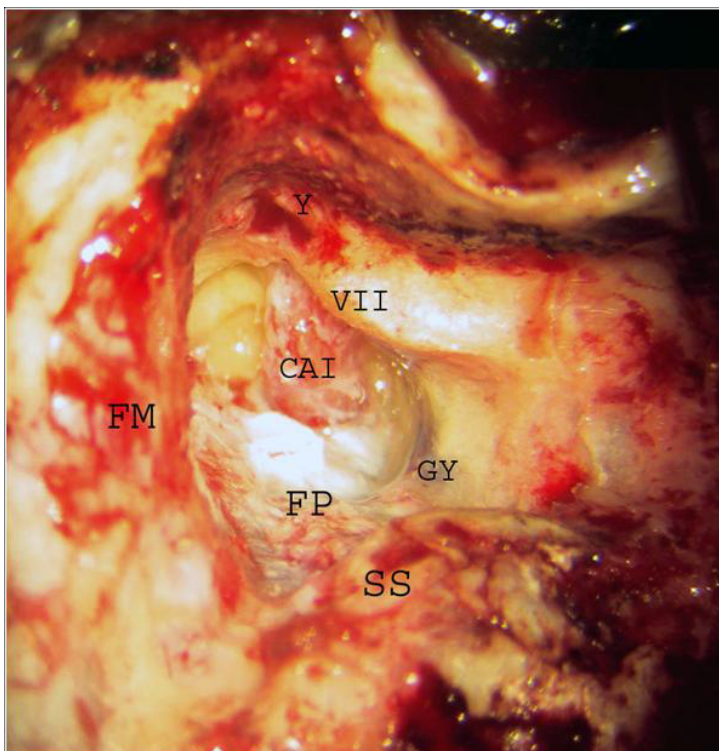


Foto 6. Imagen quirúrgica de un abordaje translaberíntico para la resección de un schwannoma vestibular derecho (FM: fosa cerebral media; CAI: conducto auditivo interno; Y: yunque; VII: nervio facial; GY: golfo de la vena yugular interna; SS: seno sigmoideo; FP: fosa cerebral posterior)

La vía retrosigmoidea permite potencialmente conservar la audición del paciente. Proporciona un campo quirúrgico excelente en el ángulo pontocerebeloso, si bien no permite controlar el fondo del conducto auditivo interno salvo si se emplea un endoscopio de 70°. Por este motivo, este abordaje suele utilizarse para extirpar tumores localizados en el ángulo pontocerebeloso.

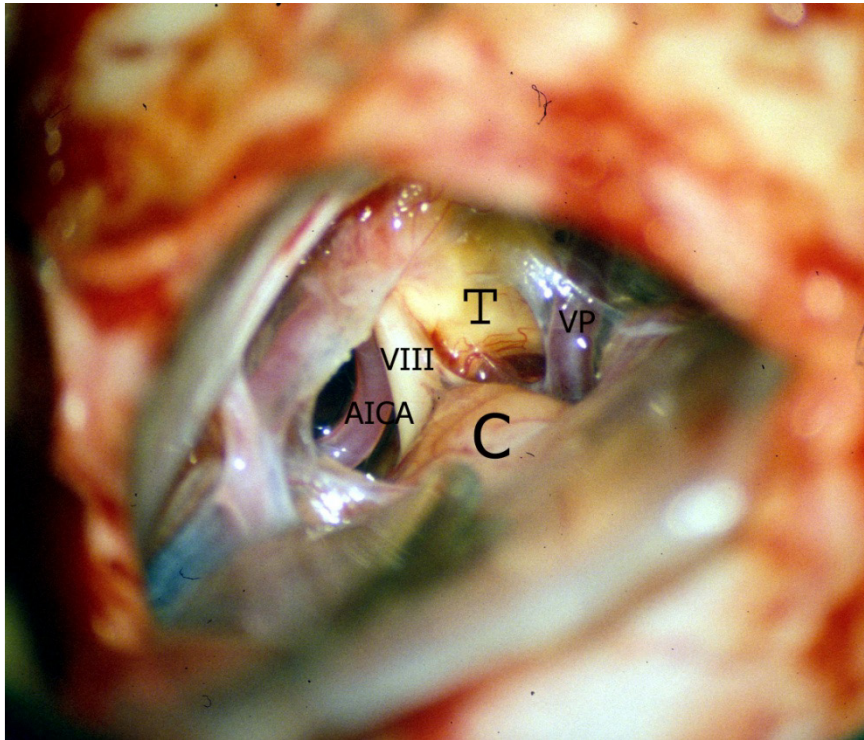


Foto 7. Imagen quirúrgica de un abordaje retrosigmoideo para la resección de un schwannoma vestibular izquierdo (AICA: arteria cerebelosa anteroinferior; VIII: nervio vestibulo-coclear; T: tumor; VP: vena petrosa; C: cerebelo)

La vía transtemporal es, al igual que la retrosigmoidea, potencialmente conservadora de la audición. Está indicada para tumores localizados en el conducto auditivo interno, que es la zona que aborda directamente. Sus principales limitaciones son que es el abordaje técnicamente más complejo y que no debe practicarse en pacientes mayores de 65 años, ya que requiere la retracción de todo el lóbulo temporal con la duramadre que lo recubre, y, por encima de dicha edad, la rigidez de la duramadre no permite su retracción sin riesgo de lesiones.

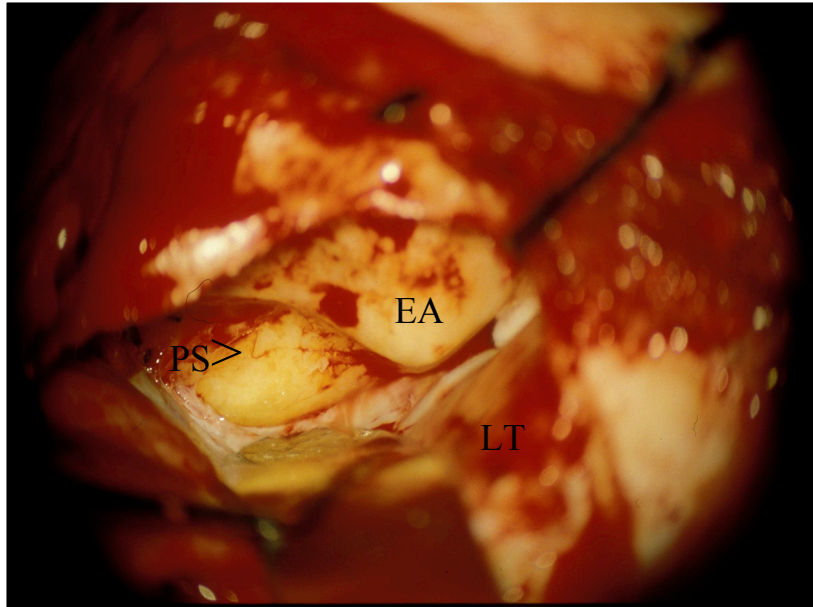


Foto 8. Imagen quirúrgica de un abordaje transtemporal para la resección de un schwannoma vestibular derecho (EA: eminencia arcuata; PS>: nervio petroso superficial mayor; LT: lóbulo temporal)

5. Función facial y cirugía del schwannoma vestibular

5.1. Introducción

Por su proximidad al VIII par craneal, el nervio facial es susceptible de ser dañado por distintos mecanismos. Algunos pacientes con función facial normal presentan una disfunción preoperatoria subclínica, que puede demostrarse en la electromiografía. Durante la cirugía, el facial puede lesionarse de forma inmediata por mecanismos físicos (manipulación, estiramiento o sección). También puede sufrir daños térmicos o vasculares. Las alteraciones diferidas de la función facial pueden deberse a atrapamiento del nervio en el foramen meatal, edema o vasoespasmo.

5.2. Factores conocidos que influyen en la función facial postquirúrgica

En cuanto a factores que influyen en la preservación del nervio facial, la literatura coincide en señalar, mediante análisis de regresión multivariante, el tamaño tumoral pequeño, el umbral de estimulación del nervio facial bajo y la ausencia o corta duración de disfunción facial previa como factores pronósticos del resultado final de preservación de la función facial²⁸⁻³¹.

6. Factores moleculares en el schwannoma vestibular

En la actualidad, los tratamientos del schwannoma vestibular, tanto la cirugía como la radiocirugía, son efectivos, pero la morbilidad asociada al tratamiento continúa siendo un problema. En este contexto cobra especial interés el estudio de la biología molecular del schwannoma vestibular, la denominada por algunos autores “otoneurología molecular”, con ayuda de la cual el otoneurólogo pretende en un futuro obtener herramientas que le permitan adelantar el diagnóstico y mejorar las opciones actuales de tratamiento. Asimismo, de forma más inmediata, es posible que la otoneurología molecular aporte información que nos ayude a determinar cuáles es la opción de tratamiento más adecuada en cada caso para aconsejar mejor al paciente.

La “otoneurología molecular” se centra actualmente en el estudio del gen NF2 y su proteína, denominada merlin; la metilación de otros genes reguladores y la vía proteína del retinoblastoma-quinasa dependiente de ciclina (Rb-CDK).

6.1. El gen NF2

6.1.1. Generalidades

El gen NF2^{32,33} es un gen supresor tumoral que codifica una proteína denominada merlin. El gen NF2 se localizó en el cromosoma 22 en el año 1993. Su locus se mapeó próximo al centro del brazo largo del cromosoma (22q12). Se han encontrado mutaciones del gen NF2 no sólo en pacientes con NF2 si no también en schwannomas esporádicos unilaterales, en meningiomas y en mesoteliomas.

6.1.2. Mecanismos de inactivación del gen NF2

Se han identificado mecanismos tanto genéticos (pérdida alélica, mutaciones...) como epigenéticos (metilación aberrante del promotor) de inactivación completa del gen NF2 en tumores esporádicos y asociados a NF2. El esclarecimiento de los mecanismos epigenéticos que causan represión transcripcional facilitaría que se pudieran correlacionar las variaciones genéticas y epigenéticas de dicho gen con la clínica y la histopatología de los schwannomas vestibulares.

6.1.2.1. Mutaciones

En cuanto a las variaciones genéticas, en el 66% de los schwannomas vestibulares esporádicos aparecen mutaciones del gen NF2, pero sólo en el 33% de los schwannomas vestibulares asociados a la NF2. También varía el tipo de mutación: la mayoría de las mutaciones en los pacientes con NF2 son mutaciones puntuales, mientras que en los tumores esporádicos predominan las deleciones pequeñas. El tipo y la localización de la mutación se han asociado al pronóstico. Las deleciones que truncan la proteína NF2 se encuentran en pacientes con NF2 con fenotipo más grave, mientras que las mutaciones en regiones no codificantes o las inserciones pequeñas en la región codificante de NF2 se asocian a un fenotipo más leve. Las mutaciones en regiones no codificantes localizadas en el dominio α -helicoidal presentan un fenotipo

menos grave que las localizadas en el dominio FERM. Esta falta de correlación entre el genotipo y el fenotipo puede también observarse en las deleciones grandes³⁴.

6.1.2.2. Otros

La variabilidad fenotípica observada en familias con NF2 con la misma mutación llevó a plantearse la posibilidad de que existan mecanismos adicionales que inactiven el gen NF2, como un gen que modifique la expresión de NF2, mutaciones o metilaciones en la región reguladora del gen NF2, o el cambios postranscripcionales como el procesamiento alternativo o la poliadenilación diferencial de los transcriptos del gen NF2. En efecto, se han encontrado distintas isoformas de RNA mensajero (RNAm) en el schwannoma vestibular, fruto del procesamiento alternativo de NF2. Durante la transcripción, sólo se transcriben determinados fragmentos de ADN que se denominan exones. Los intrones son los fragmentos de ADN que se transcriben pero son eliminados durante el procesamiento del RNAm. El procesamiento alternativo es el mecanismo por el cual se unen distintas combinaciones de exones para producir múltiples transcriptos de RNAm a partir del mismo gen, que son conocidos como isoformas de RNAm. El gen NF2 tiene 17 exones. Las isoformas más comunes son la isoforma II, que contiene los 17 exones, y la isoforma I, a la que le falta el exón 16. Los schwannomas vestibulares expresan un alto porcentaje de una isoforma de RNAm de NF2 que carece de los exones 15 y 16, además de las isoformas I y II. El papel del procesamiento alternativo del RNAm del NF2 en el schwannoma vestibular no se conoce bien aún. Es posible que la función supresora tumoral de NF2 requiera la expresión equilibrada de varias proteínas codificadas por distintas isoformas en las células de Schwann. Por tanto, el procesamiento alternativo podría ser otro mecanismo de

inactivación de la función de la proteína merlin o generar isoformas de potencial tumorigénico.

Respecto del promotor del gen NF2, se han estudiado las mutaciones de las regiones no traducidas del gen NF2 en tumores en los que no se han encontrado mutaciones en la región codificante. Tanto la región 3' como la 5' son ricas en guanina/citosina, por lo que pueden metilarse e inactivarse. Kino³⁵ estudió la metilación de islotes 3 CpG en la región promotora de NF2 en 14 de 23 schwannomas vestibulares, concluyendo que éste podría ser un mecanismo alternativo de inactivación del gen NF2.

6.2. Merlin

El gen NF2 codifica una proteína de 595 aminoácidos, llamada merlin (*moesin-ezrin-radixin like protein*) o schwannomin, que presenta cierta homología con la superfamilia de proteínas relacionada con la proteína eritrocitaria 4.1 (familia ERM). Las proteínas ERM están implicadas en el remodelamiento celular mediante el citoesqueleto de actina. Presentan un dominio N-terminal globular (dominio FERM), una α -hélice y un extremo C-terminal cargado. Las células de los schwannomas vestibulares asociados a NF2 muestran importantes alteraciones en el citoesqueleto de actina y anomalías en la diseminación celular. La proteína merlin desempeña un importante papel en la regulación de los procesos mediados por el citoesqueleto de actina y en la proliferación celular. Mientras que otros miembros de la familia ERM facilitan el crecimiento celular, la proteína merlin es supresora del crecimiento, por lo que actúa como un supresor tumoral. Merlin se expresa en distintos tipos de células.

6.2.1. Supresor tumoral

La sobreexpresión del gen NF2 en fibroblastos de ratón o en células de schwannoma en ratas limita el crecimiento celular y suprime la transformación celular por el oncogen ras. El control de crecimiento de las células de Schwann se pierde en ausencia de la función del gen NF2³⁴.

Las mutaciones de NF2 y la deficiencia de merlin pueden alterar diversos aspectos de la señalización intracelular y conducir a la transformación tumoral. Estos hallazgos demuestran la capacidad de merlin para actuar como un supresor tumoral.

6.2.2. Señalización celular

La proteína merlin se une al citoesqueleto de actina y a dominios de la membrana celular ricos en moléculas de señalización que regulan las respuestas celulares a los estímulos proliferativos y antiproliferativos. Merlin media la inhibición por contacto del crecimiento celular mediante señales de la matriz extracelular. Cuando la densidad celular es elevada, merlin se hipofosforila e inhibe el crecimiento celular. La actividad inhibidora de crecimiento de merlin depende de la interacción específica con CD44. Merlin y CD44 constituyen un interruptor molecular que especifica la detención del crecimiento celular o la proliferación.

Merlin funciona como un supresor de tumor y de metástasis controlando el contacto célula a célula mediado por cadherinas. Rac1, miembro de la familia de la RhoGTPasa, promueve la fosforilación de merlin, inactivando así su mecanismo supresor del crecimiento. La función reguladora de crecimiento de merlin se relaciona con su conformación y las interacciones proteína-proteína. En la conformación cerrada, las regiones N- y C-terminal interaccionan, plegando la proteína para ocultar

el sitio de unión de la actina. Señales como la fosforilación pueden cambiar la molécula a la conformación abierta, en la que la interacción intramolecular se rompe. La proteína merlin puede ciclar entre las conformaciones abierta y cerrada, determinando si se une a las proteínas ERM para transducir la señal de inhibición del crecimiento de merlin. La capacidad de merlin para ciclar entre ambas conformaciones puede integrar a las vías de señalización de CD44 y el factor de crecimiento de los hepatocitos.

6.3. Otros genes estudiados en el schwannoma vestibular

Welling³⁶ estudió 25,920 genes en 8 schwannomas vestibulares. Como ejemplo de vía de señalización celular desregulada sugerida por datos de análisis con microarrays, señaló la vía de la proteína del retinoblastoma (Rb)-kinasa dependiente de ciclina (CDK). En concreto, CDK2, implicada en la progresión de G1 a S, estaba infrarregulada en 7 de 8 tumores.

En el Servicio de Oncogenética Molecular del Hospital La Paz, Bello y colaboradores³⁷ publicaron que los genes reguladores del ciclo celular presentan hipermetilación aberrante en el 10% de los 80 schwannomas vestibulares estudiados. Esto concuerda con datos previos que sugieren que la desregulación de la vía RB1-CDK es un rasgo característico de estos tumores.

El Servicio de ORL del Hospital La Paz, en colaboración con el Servicio de Oncogenética Molecular, inició el estudio de la metilación de genes reguladores en el schwannoma vestibular en el año 2006³⁸, intentando correlacionar los hallazgos moleculares con la clínica, para ver si era posible encontrar marcadores moleculares que ayudaran a predecir el comportamiento del schwannoma vestibular, ya que hasta la fecha se carecía de ellos. Se encontraron valores de metilación de 9% a 27% en 12

de 16 genes estudiados en 22 schwannomas vestibulares: RASSF1A, VHL, PTEN, TP16, CASP8, TIMP3, MGMT, DAPK, THBS1, HMLH1, TP73 y GSTP1. Se demostraron asociaciones significativas entre la metilación de CASP8, un gen apoptótico, y la edad y el tamaño tumoral. La metilación de TP73, un gen apoptótico e inhibidor del crecimiento, se relacionaba con la presencia de hipoacusia. Por último, la metilación de RASSF1A, un gen supresor implicado en la vía de apoptosis mediada por Ras, presentaba una relación inversa con el índice de crecimiento. En otro estudio, Lassaletta y colaboradores³⁹ observaron que la hipermetilación de RASSF1A, que produce pérdida de expresión de RASSF1A, se asociaba a expresión negativa de ciclina D1 en 21 schwannomas vestibulares estudiados. Este hallazgo contrasta con la hipótesis de que RASSF1A modula la progresión del ciclo celular a través de vías que regulan la acumulación de ciclina D1. Shivakumar⁴⁰ observó en tumores epiteliales de mama y pulmón que la reintroducción de la expresión de RASSF1A en las células tumorales producía arresto del ciclo celular en la transición G1/S, acompañado de pérdida de acumulación de ciclina D1. Whang y colaboradores⁴¹ encontraron que la expresión exógena de RASSF1A disminuía la expresión de ciclina D1, induciendo arresto celular en fase G1. Pizzi⁴² halló expresión de ciclina D1 en todos los tumores endocrinos malignos localizados en el intestino anterior con metilación de RASSF1A, pero no en los que carecían de metilación del promotor. Esta relación entre la metilación del promotor de RASSF1A y la expresión de ciclina D1 no se confirmó en tumores endocrinos en otras zonas del intestino. Es más, se encontró expresión de ciclina D1 en ausencia de metilación de RASSF1A en todos los tumores carcinoides rectales. Los hallazgos del estudio de Lassaletta³⁹ no confirmaban la hipótesis de que la sobreexpresión de RASSF1A bloquea el crecimiento celular inhibiendo la acumulación

de ciclina, puesto que la hipermetilación de RASSF1A se asociaba a expresión negativa de ciclina.

6.4. Marcadores inmunohistoquímicos de crecimiento en el schwannoma vestibular

Revisando la literatura publicada a este respecto, los estudios muestran correlación entre el crecimiento tumoral, evaluado mediante RMN y datos históricos, y los índices de crecimiento nuclear en los schwannomas vestibulares esporádicos y asociados a la NF2. No obstante, el crecimiento de los schwannomas vestibulares quísticos parece deberse a un mecanismo distinto. Neff³⁴ apuntaba que aunque las mutaciones que inactivan el gen NF2 son responsables del desarrollo de muchos schwannomas vestibulares, el tipo y la localización de la mutación no son suficientes para predecir el comportamiento clínico de estos tumores. En concreto, Neff afirmaba que no hay factores predictivos de la tasa de crecimiento conocidos en la actualidad. En el estudio de 2007⁴³ nos centramos en la ciclina D1, un proto-oncogen que puede intervenir en la diferenciación de las células de Schwann⁴⁴ y que es parte de la vía Rb-CDK anteriormente mencionada. Se analizaron la histología, la inmunohistoquímica con anticiclina D1, las historias clínicas y las resonancias magnéticas de 21 schwannomas vestibulares. La ciclina D1 se expresaba en 52% de los casos. La expresión de ciclina era más frecuente en tumores derechos y en tumores con cambios degenerativos nucleares. Se concluyó que la expresión de ciclina D1 puede estar implicada en el desarrollo del schwannoma vestibular, en consonancia con lo publicado por otros investigadores.

6.5. Ciclina D1

Las ciclinas-CDK son reguladores principales de la proliferación celular. Las CDK (quinasas dependientes de ciclina) son serín/treonín kinasas que para activarse precisan de la unión de una subunidad de ciclina para formar un heterodímero. Estas moléculas son los motores que inician y detienen el ciclo celular en respuesta a señales proliferativas o antiproliferativas, fosforilando sustratos específicos de forma dependiente de la fase del ciclo celular. Complejos únicos de CDK-ciclina con actividades específicas durante cada fase del ciclo celular aseguran la progresión a lo largo de las distintas transiciones del ciclo.

Se han aislado 8 clases principales de ciclinas en mamíferos, algunas de las cuales se dividen a su vez en varias subclases: A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G y H. Las distintas ciclinas alcanzan su máximo pico de actividad en distintas fases del ciclo celular. Por ejemplo, las ciclinas C, D1-3 y E son más activas durante la fase G1, y aparentemente regulan la transición de G1 a S, mientras que las ciclinas A y B1-2 desarrollan su máxima actividad durante las fases S y G2, que es cuando regulan la transición a la fase mitótica del ciclo celular. Hay que destacar que las fluctuaciones en la ciclina D1 son más sutiles que las de otras ciclinas, y pueden representar redistribución durante la fase S más que aumento de la actividad durante G1⁴⁵.

La ciclina D1 es una proteína reguladora clave del punto de control G1/S del ciclo celular, de ahí su capital importancia en la regulación del ciclo celular normal y en las neoplasias. Está codificada por el gen CCND1, PRAD1 o bcl-1, localizado en el cromosoma 11q13. La amplificación de este protooncogen o la sobreexpresión de ciclina D1 liberan a la célula del control normal de crecimiento y producen transformación tumoral. Las alteraciones en el gen (amplificación) o en la expresión de la proteína (sobreexpresión) se han asociado a varios tipos de cáncer: linfoma del

manto (en el que ayuda al diagnóstico), carcinoma colorrectal, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, cáncer de esófago, carcinoma hepatocelular, cáncer de células transicionales vesical, cáncer de cérvix (asociado al virus del papiloma humano) y de vulva, cáncer de endometrio, cáncer epitelial de ovario, carcinoma epidermoide y no microcítico de pulmón, cáncer de próstata y de mama, melanoma, carcinoma epidermoide cutáneo, histiocitoma fibroso maligno, algunos sarcomas, astrocitomas, glioblastomas, adenocarcinomas gástricos y pancreáticos, carcinoma epidermoide de la vesícula, adenomas de paratiroides..., en algunas de las cuales se ha encontrado que tienen valor pronóstico. En el futuro, se espera que pueda ser blanco de tratamientos biológicos del cáncer. Por todo esto, en 1998 la ciclina D1 fue propuesta por algunos autores como “molécula del año”⁴⁵.

JUSTIFICACIÓN

La parálisis facial es una de las secuelas más temidas de la cirugía del schwannoma vestibular, tanto para el paciente como para el cirujano. Los pacientes, cada vez más documentados acerca de su enfermedad, demandan información sobre las probabilidades que tienen de sufrir una parálisis facial cuando les planteamos la cirugía.

En centros con experiencia reconocida en cirugía de base de cráneo, la probabilidad de tener una parálisis facial postoperatoria definitiva oscila entre el 4 y el 20%^{1,2,30,46,47}. En la literatura hay poca información acerca de factores predictivos de función facial preoperatorios.

Tradicionalmente se considera que existe relación entre el tamaño tumoral y la función facial postquirúrgica. Así, la cirugía de tumores de mayor tamaño supone una mayor probabilidad de parálisis facial que la de tumores pequeños. Sin embargo, existe gran controversia a la hora de escoger la mejor forma de determinar el tamaño tumoral. Habitualmente se emplea el diámetro máximo del tumor en la resonancia magnética con gadolinio, si bien en los últimos años se está empleando el volumen tumoral, que puede calcularse mediante diversos métodos. Por el momento no se ha podido demostrar qué método de medición del tamaño tumoral es más adecuado para predecir la función facial postoperatoria. Asimismo, existe controversia respecto a otros factores que podrían influir en los resultados de la función facial, como la adherencia del tumor al nervio facial o la resección tumoral subtotal frente a la total. Hasta la fecha, no hemos encontrado ninguna publicación que estudie la influencia de factores moleculares del schwannoma vestibular en la función facial postoperatoria.

En estudios recientes^{43,48,49}, se ha sugerido que la ciclina D1 puede desempeñar un papel en la génesis del schwannoma vestibular. En efecto, la ciclina D1 está implicada en la vía Rb-CDK, desregulada en estos tumores; tiene una función conocida de reguladora del ciclo celular; su expresión aumenta en las células de Schwann dañadas, en el contexto de schwannoma vestibular o de enfermedades desmielinizantes^{48,49}; y finalmente, los schwannomas vestibulares con expresión de ciclina D1 presentan características clínicas y anatomopatológicas diferentes de los tumores que no la expresan⁴³.

Por todo ello, nos planteamos estudiar factores predictivos de la función facial postquirúrgica en nuestros pacientes y elaborar un modelo de predicción de función facial postoperatoria, integrando factores tanto clínicos, radiológicos, electrofisiológicos y anatomopatológicos, como factores moleculares, cuya relación con la función facial no ha sido estudiada hasta ahora.

HIPÓTESIS

La literatura señala que la función facial tras la cirugía del schwannoma vestibular depende de una serie de factores relacionados con el tumor, como su tamaño, con el individuo, como la función facial preoperatoria, y con la propia cirugía, en concreto con el umbral eléctrico necesario para estimular al nervio a su salida del tronco del encéfalo al final de la intervención. No obstante, estos factores por sí solos no predicen con exactitud la función facial postoperatoria, y en la práctica clínica diaria se encuentran pacientes con función facial preoperatoria, tamaño tumoral y estimulación del nervio al término de la cirugía comparables, y que sin embargo presentan distinta función facial postoperatoria. Por eso nos planteamos introducir factores moleculares en el modelo predictivo, intentando aumentar su capacidad de predicción. En concreto, nos centramos en la ciclina D1, debido al importante papel que la vía que regula, la Rb-CDK, desempeña en la tumorigénesis del schwannoma vestibular. Así, nos propusimos elaborar un modelo predictivo multifactorial de función facial postoperatoria integrando las variables clínicas, radiológicas, electrofisiológicas, anatomopatológicas y moleculares antes mencionadas, que nos ayude a prever cuál va a ser la función facial postoperatoria de un determinado paciente.

Nuestra hipótesis es que el tamaño tumoral, el umbral eléctrico necesario para estimular al nervio facial al final de la cirugía, las funciones facial postoperatoria inmediata y al alta y la expresión de ciclina D1 en el schwannoma vestibular deberían de ser factores predictivos de la función facial postoperatoria al año, y que integrando todos estos factores, podemos elaborar y validar un modelo de predicción de función facial al año de la intervención quirúrgica.

OBJETIVOS

- Determinar el valor predictivo de diversos factores en la función facial inmediata, al alta hospitalaria y definitiva tras la cirugía del schwannoma vestibular. Estos factores serían:
 - a. Clínicos (variables demográficas, función facial preoperatoria y audición preoperatoria)
 - b. Radiológicos (localización y tamaño tumoral)
 - c. Electrofisiológicos (umbral mínimo de estimulación eléctrica del nervio facial en su salida del tronco del encéfalo al final de la cirugía)
 - d. Anatomopatológicos (tipo histológico de Antoni, presencia de cambios degenerativos nucleares y citoplasmáticos)
 - e. Moleculares (expresión de ciclina D1)

- Elaborar y validar un modelo predictivo de función facial postoperatoria que incluya dichos factores clínicos, radiológicos, electrofisiológicos, anatomopatológicos y moleculares.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Criterios de inclusión y exclusión

1.1. Criterios de inclusión

Se estudiaron todos los pacientes intervenidos por schwannoma vestibular desde el 1-1-2001 hasta el 31-12-2006 (n=107) en el Hospital Universitario La Paz con un seguimiento mínimo de un año. Se trata por tanto de un estudio retrospectivo. Se estableció este periodo de seguimiento porque se considera que la función facial que presenta el paciente al año de la cirugía es la función facial postoperatoria definitiva⁵⁰. Todos los pacientes fueron intervenidos por los mismos cirujanos con experiencia en otoneurocirugía del ángulo pontocerebeloso.

1.2. Criterios de exclusión

Se excluyeron aquellos pacientes cuyo estudio anatomopatológico era diferente de schwannoma, los que carecían de seguimiento adecuado, aquellos en los que se seccionó intraoperatoriamente el nervio facial, con o sin reconstrucción del mismo, los schwannomas del nervio facial, las recidivas y los tumores intervenidos por otro cirujano con menos experiencia. De este modo, el tamaño muestral final fue de 79.

2. Factores demográficos

Se registraron el sexo y la edad de cada paciente revisando sus historias clínicas.

3. Factores clínicos

3.1. Motivo de consulta

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes para recoger el motivo por el que consultaron.

3.2. Función facial

La función facial se evaluó preoperatoriamente, en el postoperatorio inmediato, a la semana y al año de la intervención, mediante la clasificación de House-Brackmann⁵¹. Dicha clasificación establece seis categorías o grados de disfunción (Tabla 1).

Para simplificar los cálculos estadísticos, estos 6 grados se agruparon en función facial excelente (grados 1 y 2) y función facial aceptable o mala (grados 3 a 6).

Grado 1	Función normal en todos los territorios
Grado 2	Disfunción leve Ligera o leve debilidad de la musculatura, apreciable tan sólo en la inspección meticulosa En reposo simetría normal No sincinesias, contracturas ni espasmos faciales
Grado 3	Disfunción moderada Diferencia clara entre ambos lados sin ser desfigurante Incompetencia para el cierre palpebral completo; hay movimiento de región frontal Asimetría de la comisura bucal en movimientos máximos En reposo simetría y tono normal
Grado 4	Disfunción moderadamente grave Debilidad y/o asimetría desfiguradora En reposo simetría y tono normal No hay movimiento de región frontal; imposibilidad para cerrar totalmente el ojo Sincinesias. Espasmo facial
Grado 5	Disfunción grave Sólo ligera actividad motora perceptible En reposo asimetría
Grado 6	Parálisis total. No hay movimiento facial. Pérdida total del tono

Tabla 1. Clasificación de House-Brackmann

3.3. Audición

Se realizó un estudio audiométrico tonal y verbal pre y postoperatorio de cada paciente. Se clasificó a los pacientes según su grado de hipoacusia empleando el sistema establecido en 1995 por el Comité de Audición y Equilibrio de la Academia

Americana de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello. Dicha clasificación divide a los pacientes en cuatro clases (Tabla 2).

Clase A	umbral en la audiometría tonal liminar ≤ 30 dB y discriminación máxima en la audiometría verbal $\geq 70\%$
Clase B	umbral en la audiometría tonal liminar > 30 dB ≤ 50 dB y discriminación en la audiometría verbal $\geq 50\%$
Clase C	umbral en la audiometría tonal liminar > 50 dB y discriminación en la audiometría verbal $\geq 50\%$
Clase D	cualquier umbral en la audiometría tonal liminar y discriminación en la audiometría verbal $< 50\%$

Tabla 2. Clasificación de audición de la Academia Americana de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello

4. Factores radiológicos

Se estudiaron las resonancias magnéticas con gadolinio de todos los pacientes para determinar

4.1. Lado del tumor

4.2. Localización del tumor

En el conducto auditivo interno, en el ángulo pontocerebeloso o en ambos.

4.3. Tamaño tumoral

Como determinación del tamaño tumoral se emplearon el mayor diámetro del tumor en la resonancia magnética, tanto en el conducto auditivo interno como en el ángulo pontocerebeloso como en total, y la determinación del volumen tumoral.

Para realizar dichas mediciones, se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes seleccionados y se Fotografiaron los cortes axiales y coronales de las secuencias T1 con gadolinio de sus resonancias magnéticas preoperatorias para poder trabajar con ellas en formato digital. Utilizando la versión 8.0.1. del programa Adobe® Photoshop® CS, se midieron los diámetros mayores en el conducto auditivo interno, en el ángulo pontocerebeloso y considerando el tumor en su totalidad, en dirección anteroposterior y medial-lateral en los cortes axiales y en dirección craneo-caudal en los coronales. Las medidas se obtuvieron en píxeles. Para realizar la conversión a mm se utilizaron las reglas graduadas que incluye de forma rutinaria cada corte de resonancia magnética. De cada paciente se escogieron el mayor diámetro que presentaba el tumor en el conducto auditivo interno, en el ángulo pontocerebeloso y en su totalidad (conducto auditivo interno y ángulo pontocerebeloso) en dirección anteroposterior y medial-lateral en los cortes axiales y en dirección craneo-caudal en los coronales.

Para determinar el volumen tumoral, se empleó el método publicado por Cayé-Thomasen en 2005⁵². Según este método, la forma tumoral se aproxima a una elipsoide, y se calcula el volumen mediante la fórmula $Vol = 1/6 \cdot \pi \cdot D1 \cdot D2 \cdot D3$, donde D1 corresponde al diámetro anteroposterior máximo del tumor medido en los cortes transversales, D2 al diámetro medial-lateral máximo en los cortes axiales y D3 al diámetro craneocaudal máximo medido en los cortes coronales. En los pacientes en los que no se dispone de cortes coronales, se calcula D3 como $D3 = \sqrt{D1 \cdot D2}$.

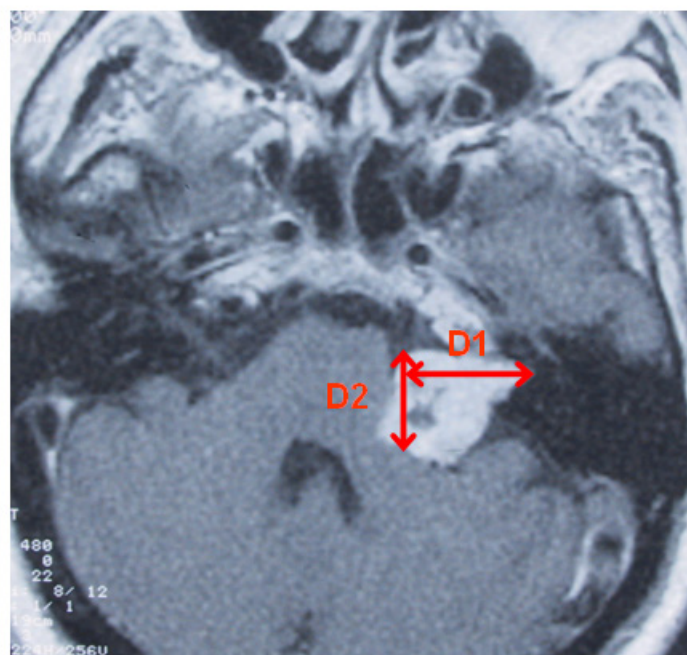


Foto 9. Corte axial de RNM T1 con gadolinio donde D1 corresponde al mayor diámetro antero-posterior y D2 al mayor diámetro medial-lateral

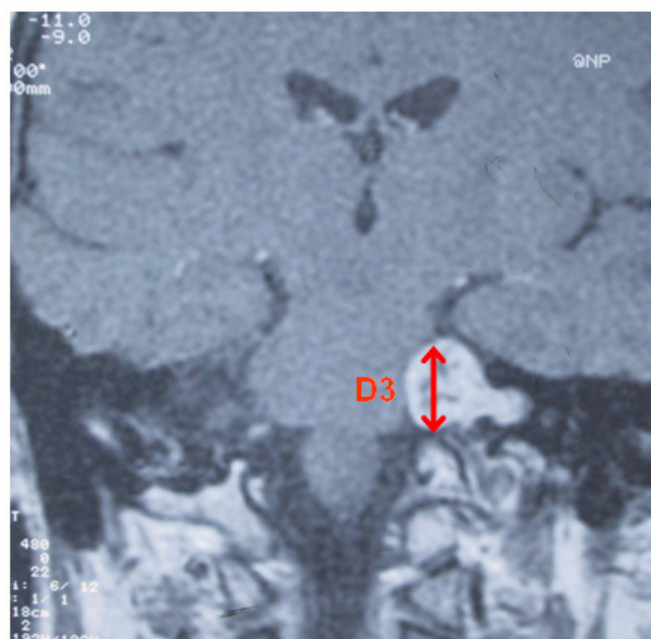


Foto 10. Corte coronal de RNM T1 con gadolinio donde D3 corresponde al mayor diámetro craneo-caudal

5. Factores quirúrgicos

5.1. Abordaje

Con respecto a la técnica quirúrgica, los abordajes que empleamos fueron la vía translaberíntica, la retrosigmoidea y la fosa media.

5.2. Criterios de selección de abordaje

Los principales factores que se deben considerar para seleccionar el abordaje quirúrgico en el schwannoma vestibular son la edad del paciente, la audición que presenta en el momento del diagnóstico y la localización tumoral, por un lado, y las preferencias y experiencia del cirujano por otro.

La vía translaberíntica sacrifica la audición, por lo que solemos preferirla para la resección de tumores pequeños en pacientes con audición no útil o en tumores en los que por su localización la probabilidad de preservar la audición es muy baja o nula. La vía transtemporal permite potencialmente conservar la audición del paciente. La empleamos para tumores pequeños en pacientes candidatos a preservar la audición. La vía transtemporal es, al igual que la retrosigmoidea, potencialmente conservadora de la audición. Proporciona un campo quirúrgico excelente en el ángulo pontocerebeloso, por lo que solemos utilizarla para extirpar tumores medianos y grandes, especialmente si están localizados en el ángulo pontocerebeloso.

6. Factores electrofisiológicos

6.1. Monitorización del nervio facial

El nervio facial se monitorizó intraoperatoriamente mediante registro electromiográfico continuo con respuestas audibles, empleando el monitor del nervio facial de Medtronic Xomed, NIM-Pulse®. Antes de iniciar la cirugía, se insertaron 4 electrodos en los músculos faciales (2 en el orbicular de los ojos y 2 en el orbicular de los labios del lado afecto). Los electrodos de monitorización del orbicular de los ojos se colocan en los rebordes orbitarios superior e inferior, evitando el canto lateral del ojo y el globo ocular. Los electrodos del orbicular de los labios se colocan 1 cm laterales a la comisura bucal, uno superior y otro inferior. Los electrodos del par que monitoriza el mismo músculo deben situarse paralelos entre sí y separados por 5 mm. En este modelo de monitor, los electromiogramas del orbicular de los ojos y el de los labios se registran en canales diferentes. Para el correcto funcionamiento del monitor, hay que insertar 2 electrodos más, uno de referencia y otro de tierra, en los hombros o en la frente del paciente. Durante la disección, el monitor emite una señal audible si accidentalmente se estimula el nervio facial, y, lo que es más útil, permite la conexión de un estimulador estéril con el que aplicamos una corriente eléctrica al nervio, de intensidad ajustable por el cirujano. El estimulador ayuda a identificar directamente las fibras del nervio facial, y a detectar áreas sobre la superficie tumoral donde disecar con seguridad evitando los haces adelgazados de dicho nervio.



Fotos 11 y 12. Monitor del nervio facial NIM-Pulse®, de Medtronic Xomed



Foto 13. Paciente con los electrodos insertados en los músculos orbicular de los ojos y de la boca

6.2. Estimulación del nervio facial al final de la cirugía

Tras la excisión del tumor, se mide intraoperatoriamente la mínima intensidad necesaria para obtener respuesta del nervio facial en la salida del tronco cerebral, comenzando por estimularlo a 0,05 mA. Para simplificar los cálculos estadísticos, se crean dos grupos: pacientes cuyo nervio facial se estimula con una intensidad menor o igual a 0,05 mA, y los que precisan más de 0,05 mA. Elegimos 0,05 mA como punto de

corte porque es la intensidad habitual con la que probamos en primer lugar la estimulación del nervio tras la cirugía del schwannoma.

7. Factores anatomopatológicos

7.1. Tipo histológico

Los cortes en parafina preparados a partir de las muestras de tumor extraídas durante la cirugía de 64 casos se sumergieron en xilol para eliminar el exceso de parafina, se pasaron por alcohol de 100º, 95º y 70º y se lavaron con agua para eliminar el exceso de alcohol. Posteriormente, se sumergieron durante 10 minutos en hematoxilina, se lavaron con agua para eliminar excesos y se pasaron por alcohol ácido. A continuación, se lavaron nuevamente y se sumergieron durante 30 segundos en eosina. Se pasaron de nuevo por alcoholes en orden creciente (70º, 95º, 100º) y finalmente se dejaron en xilol durante 10 minutos antes de realizar el montaje final. Los cortes histológicos así preparados con la tinción de hematoxilina-eosina se observaron a aumentos 4x, 10x y 40x.

Se analizó el porcentaje de tejido tipo A, B y mixto en cada muestra de tumor teñida con hematoxilina-eosina. Los resultados se agruparon en 3 tipos: tipo A, cuando más del 60% del tumor estaba formado por tejido denso con abundante celularidad, con células ovaladas con núcleos alineados paralelamente en empalizada; tipo B, si más del 60% del tumor era tejido laxo, con células escasas separadas ampliamente por una matriz de patrón reticular difuso, y tipo mixto, si había la misma cantidad de tejido tipo A y B o más del 60% del tejido tumoral era tipo A y B.

7.2. Cambios degenerativos

En los mismos cortes de 64 tumores teñidos con hematoxilina-eosina, se analizó la presencia de cambios degenerativos en el núcleo y en el estroma.

7.2.1. Nucleares

Se consideraron cambios nucleares la presencia de núcleos de células de Schwann hiper cromáticos, voluminosos o irregulares.

7.2.2. Citoplasmáticos

Los cambios en el estroma incluían la presencia de vasos hialinizados, células xantomatosas y fibrosis intersticial.

Los cambios degenerativos se graduaron como 0: ausentes, \pm : leves, +: moderados y ++: importantes, aunque posteriormente, para simplificar los cálculos estadísticos, se agruparon en ausentes (0) y presentes (\pm , + y ++).

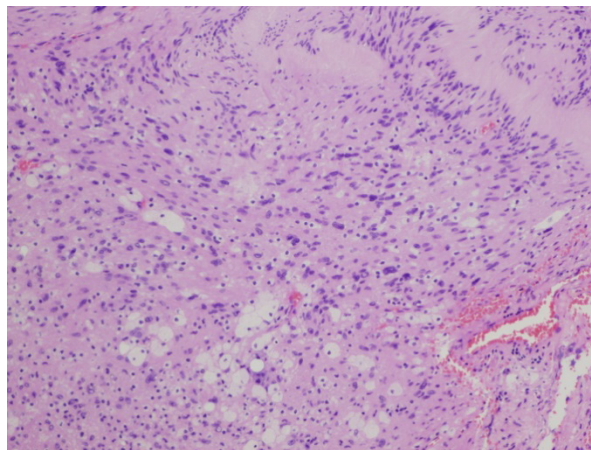


Foto 14. Preparación histológica teñida con hematoxilina-eosina 250x de un schwannoma vestibular en el que predomina el tejido tipo A de Antoni. Las flechas muestran células xantomatosas

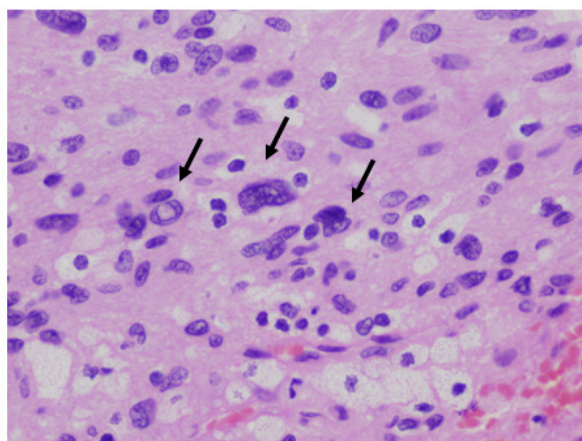


Foto 15. Cambios degenerativos nucleares. Las flechas señalan núcleos hipercromáticos, voluminosos e irregulares

8. Factores moleculares

8.1. Ciclina D1

Se estudió la presencia de ciclina D1 en 64 tumores. Para ello, los cortes histológicos incluidos en parafina fueron tratados con xilol y acetona y rehidratados. Posteriormente se incubaron una noche a -4°C con anticuerpo monoclonal anticiclina D1 (P2D11F11) (Novocastra, Newcastle, UK) diluido al 1:50. La dilución óptima de anticuerpo se predeterminó mediante tejidos de control de positividad conocida. En cada tirada se incluyeron múltiples cortes histológicos de control de positividad conocida. Los tejidos se incubaron en suero de cabra anti-ratón (1:200) marcado con biotina durante 30 minutos, se aclararon con suero salino tamponado con fosfato y se incubaron otra hora con complejo avidina-biotina-peroxidasa. La señal se detectó empleando 3,3-diaminobenzidina como cromógeno. La inmunorreactividad de la ciclina D1 fue mayoritariamente nuclear, con tinciones citoplasmáticas débiles y ocasionales. La inmunorreactividad fue evaluada semicuantitativamente puntuando tanto la intensidad de la tinción como el porcentaje de células reactivas. Dicho

porcentaje se calculó contando las células teñidas en 10 campos microscópicos a gran aumento (400x). La intensidad se graduó como 0: ausente; \pm : leve (< 50 células en 10 campos a gran aumento); +: moderada (50-100 células en 10 campos a gran aumento) y ++: importante (> 100 células en 10 campos a gran aumento). De manera análoga a los cambios degenerativos, para el análisis estadístico agrupamos los resultados en ausencia (0) o presencia de expresión de ciclina D1 (\pm , + y ++).

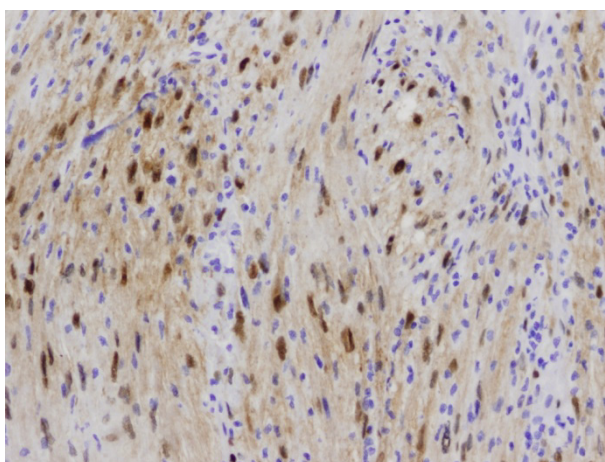


Foto 16. Corte histológico con preparación inmunohistoquímica para detección de ciclina D1. Expresión positiva importante (++)

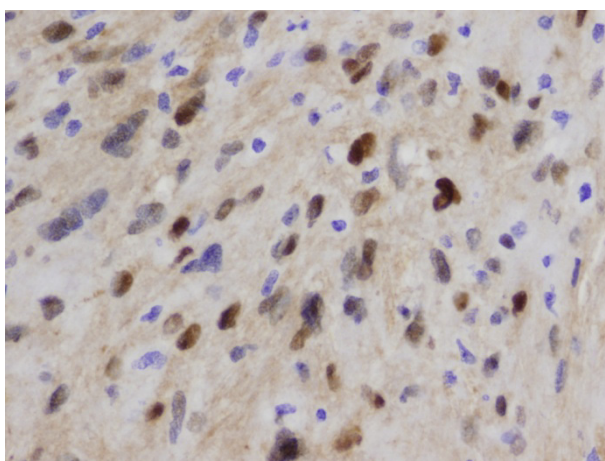


Foto 17. Corte histológico con preparación inmunohistoquímica para detección de ciclina D1. Expresión positiva moderada (+)

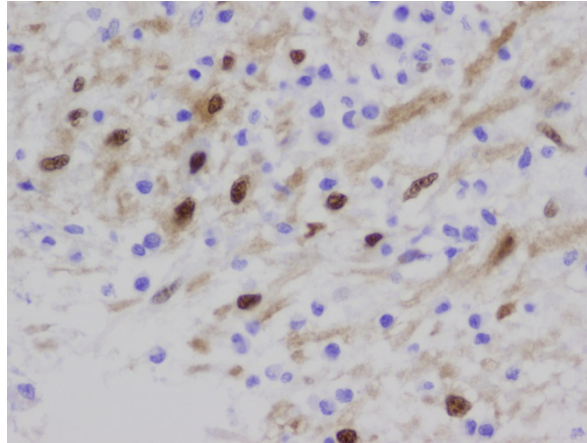


Foto 18. Corte histológico con preparación inmunohistoquímica para detección de ciclina D1. Expresión positiva leve (\pm)

9. Análisis univariante

Se investigaron las relaciones entre:

- Factores demográficos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Factores clínicos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Factores radiológicos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Factores quirúrgicos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Factores electrofisiológicos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Factores anatomopatológicos y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Expresión de ciclina D1 y función facial postoperatoria inmediata, al alta y al año
- Otras relaciones

Los cálculos estadísticos se realizaron empleando el programa SPSS 11.0. En las comparaciones entre variables cualitativas se usaron el test de χ^2 de Pearson y test

exacto de Fischer¹ y para relacionar una variable cuantitativa y otra cualitativa se emplearon la prueba de la t de Student y el test de Kruskal-Wallis. En el caso de la conducción facial y las funciones faciales inmediata, al alta y definitiva se calculó la odds ratio como medida de la fuerza de asociación. El mismo cálculo se efectuó para determinar la fuerza de asociación de las variables función facial inmediata, al alta y definitiva entre sí. Como límite de significación estadística en todos los casos se estableció $p < 0,05$.

10. Análisis multivariante

Con la colaboración del Servicio de Estadística del Hospital La Paz, se realizó un análisis de regresión multivariante para evaluar factores predictivos independientes pre, intra y postoperatorios de la variable resultado con $p=0,05^{30}$. Como variable resultado se escogió la función facial definitiva, ya que es la que más interesa al paciente y al médico. Finalmente se elaboró un modelo predictivo basado en los resultados obtenidos en el análisis de regresión multivariante, y se validó empleando el método conocido como validación cruzada (en inglés, *leave-one-out cross validation*). Dicho método consiste en, una vez elaborado el modelo predictivo, extraer un caso y comprobar que aplicando el modelo se predice correctamente la variable resultado en dicho caso.

RESULTADOS

1. Factores demográficos

Estudiamos 33 varones (41,8%) y 46 mujeres (58,2%). La edad media fue 48,8 años (rango 16-78 años, desviación estándar 13,7 años).

2. Factores clínicos

2.1. Motivo de consulta

Treinta y siete pacientes (46,8%) consultaron por hipoacusia. El siguiente motivo de consulta en frecuencia fue el acúfeno, en 17 pacientes (21,5%), seguido de mareo (10 pacientes, 12,7%) y el vértigo (4 pacientes, 5,1%). Los demás pacientes (11, 13,9%) fueron descubrimientos incidentales motivados por síntomas no otológicos.

2.2. Función facial

2.2.1. Preoperatoria

En el estudio preoperatorio (fig 1) 70 pacientes (88,6%) presentaban facial grado I, 7 pacientes (8,9%) grado 2, 1 (1,3%) grado 3 y 1 (1,3%) grado 4.

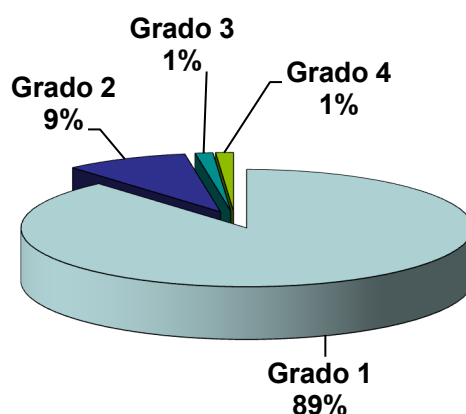


Fig.1. Función facial preoperatoria

2.2.2. Postoperatoria inmediata

Veinticuatro pacientes (30,4%) presentaban un grado 1, 24 (30,4%) un grado 2, 8 (10,1%) un grado 3, 6 (7,6%) un grado 4, 9 (11,4%) un grado 5 y 8 (10,1%) un grado 6 (fig 2).

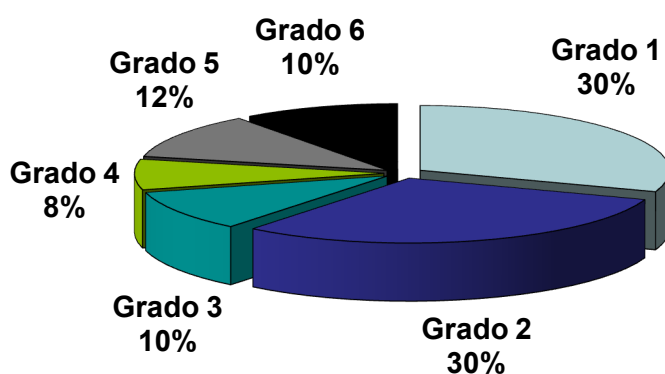


Fig.2. Función facial en el postoperatorio inmediato

2.2.3. Postoperatoria al alta

Veintiocho pacientes (35,4%) se fueron de alta con un facial grado 1, 17 (21,5%) con un grado 2, 7 (8,9%) con un grado 3, 7 (8,9%) con un grado 4, 7 (8,9%) con un grado 5, y 13 (16,5%) con un grado 6 (fig 3).

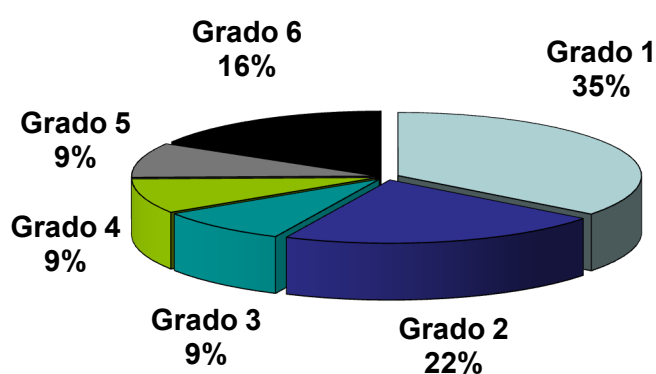


Fig.3. Función facial al alta

2.2.4. Postoperatoria al año

Cuarenta y siete pacientes (59,5%) tenían un facial grado 1, 11 (13,9%) un grado 2, 11 (13,9%) un grado 3, 6 (7,6%) un grado 4, 2 (2,5%) un grado 5 y 2 (2,5%) un grado 6 (fig 4). Por lo tanto, un año después de la intervención el 74% de los pacientes tenían una función facial excelente (grados 1-2 de House-Brackmann).

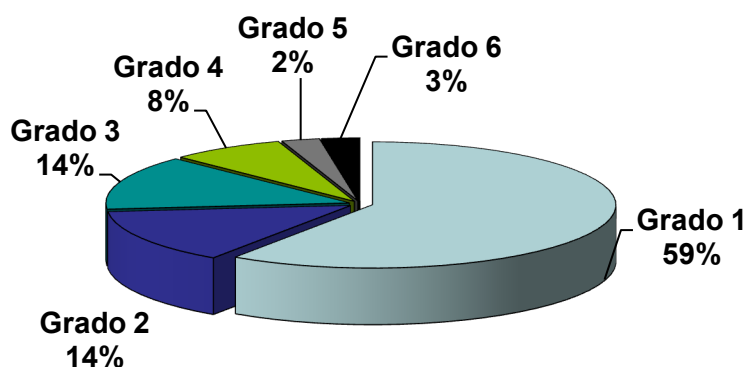


Fig.4. Función facial en la última revisión

2.3. Audición

La audición preoperatoria en el oído del neurinoma se resume en la figura 5. El umbral medio para frecuencias conversacionales fue 50,3 dB (rango 13-100 dB), desviación estándar 21,4 dB.

La discriminación media máxima en el oído del neurinoma fue 57,9% (rango 0-100%, desviación estándar 41,5%).

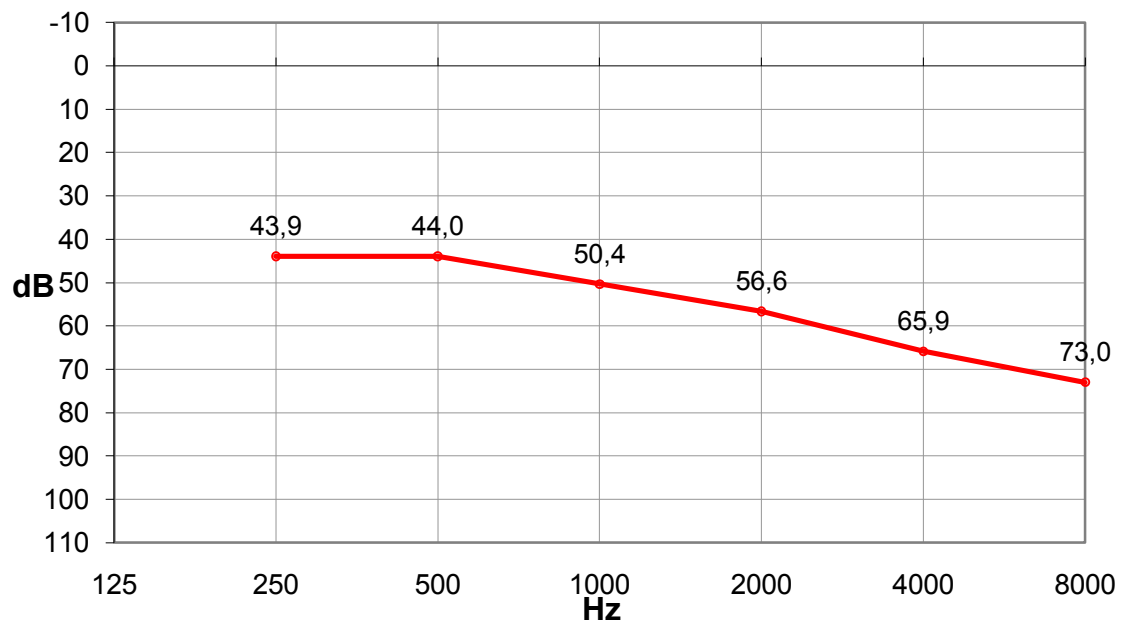


Fig.5. Umbrales audiométricos medios del oído del schwannoma vestibular

Se consideraron candidatos a conservar audición aquellos pacientes con una audición preoperatoria útil (clases A y B) y con tumores que por su volumen y localización fueran susceptibles de ser resecados con una técnica quirúrgica que potencialmente respete la audición. Treinta y nueve pacientes (49,4% del total) eran candidatos a preservar audición. En 7 pacientes (8,9% del total; 18% de los pacientes candidatos a preservar audición) se consiguió preservar audición, entendiendo como tal el mantenimiento de una audición postoperatoria incluida en las clases A y B de la Academia Americana (Tabla 2). Cuarenta pacientes (50,6%) no eran candidatos a preservación de la audición.

3. Factores radiológicos

3.1. Lado del tumor

Treinta y seis tumores eran derechos (45,6%) y 43 izquierdos (54,4%).

3.2. Localización del tumor

Estudiando la localización en la RMN, 2 tumores (2,5%) se encontraban exclusivamente en el ángulo pontocerebeloso, 9 (11,4%) se circunscribían al conducto auditivo interno, y los 68 restantes (86,1%) ocupaban el ángulo pontocerebeloso y el conducto auditivo interno.

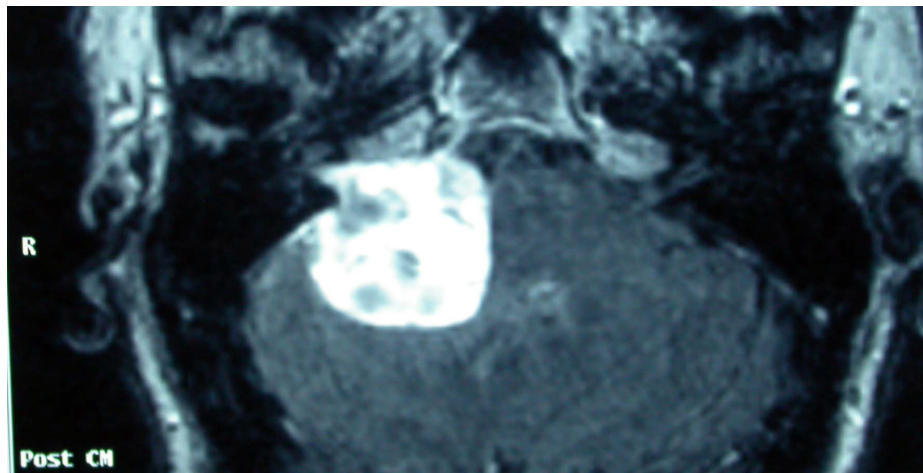


Foto 19. RMN con gadolinio que muestra un gran schwannoma vestibular derecho con áreas quísticas, que ocupa el conducto auditivo interno y se extiende al ángulo pontocerebeloso

3.3. Tamaño tumoral

El diámetro máximo medio en el ángulo pontocerebeloso fue 16,7 mm (rango 0-50 mm, desviación estándar 12,9 mm) y en el conducto auditivo interno 8,9 mm (rango 0-30 mm, desviación estándar 4,4 mm). El tamaño máximo medio considerando el tumor en su totalidad (ángulo pontocerebeloso y conducto auditivo interno) fue 22,3 mm (rango 5-55 mm, desviación estándar 10,9 mm).

El volumen tumoral medio fue 5,29 mm³ (rango 0,04-53,63 mm³, desviación estándar 9,23 mm³).

4. Factores quirúrgicos

Cuarenta y siete pacientes (59,5%) fueron intervenidos por vía retrosigmoidea, 26 (32,9%) por vía translaberíntica y 6 (7,6%) por fosa media (Tabla 3).

	Frecuencia	%
Retrosigmoidea	47	59,5%
Translaberíntica	26	32,9%
Fosa media	6	7,6%
Total	79	100%

Tabla 3. Abordaje quirúrgico

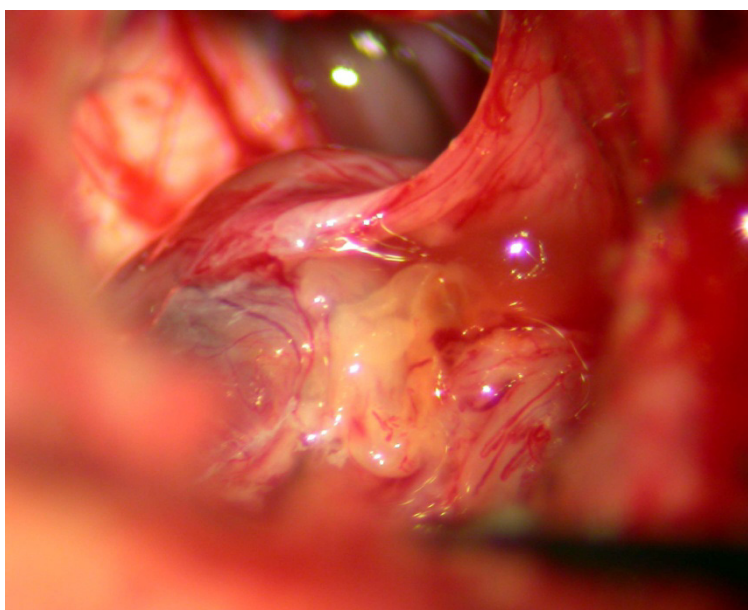


Foto 20. Imagen quirúrgica de la disección de un schwannoma vestibular derecho

5. Factores electrofisiológicos

5.1. Estimulación del nervio facial al final de la cirugía

En el 77,2% de los casos el nervio facial se estimulaba a 0,05 mA o menos, en el 10,1% de los casos se conseguía actividad estimulando entre 0,06 y 0,1 mA, el 5,1% precisaban 0,2 o más, y 6,3% no estimulaban. Agrupando los datos, en el 77,2% de los

casos el nervio facial se estimuló a intensidades menores o iguales a 0,05 mA, y en el 21,5% no se estimulaba a 0,05 mA.

6. Factores anatomopatológicos

6.1. Tipo histológico

Cincuenta y seis de los 64 tumores estudiados histológicamente (87,5%) correspondían al tipo A de Antoni, 5 de los 64 (7,8%) al tipo B y 3 (4,7%) al tipo mixto.

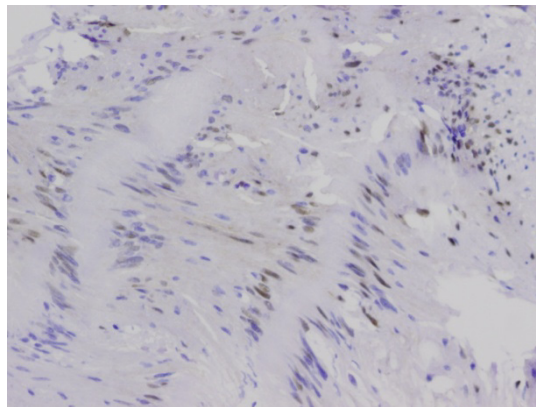


Foto 21. Corte histológico que muestra tejido tipo A de Antoni con cuerpos de Verocay y núcleos en empalizada

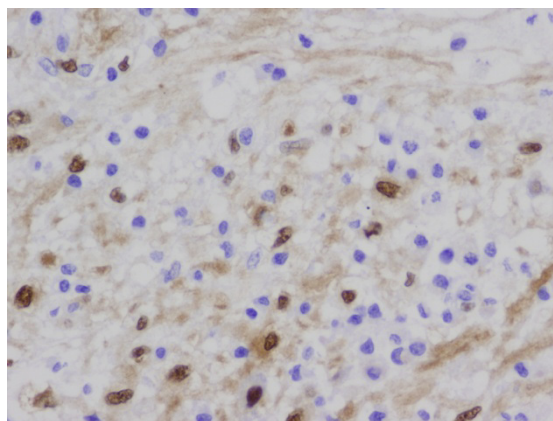


Foto 22. Preparación histológica que muestra tejido tipo B de Antoni. Ausencia de cuerpos de Verocay y mayor separación intercelular

6.2. Cambios degenerativos

6.2.1. Nucleares

Dieciocho de los 64 tumores estudiados (28,1%) presentaban cambios degenerativos nucleares, y 46 (71,9%) no los presentaban.

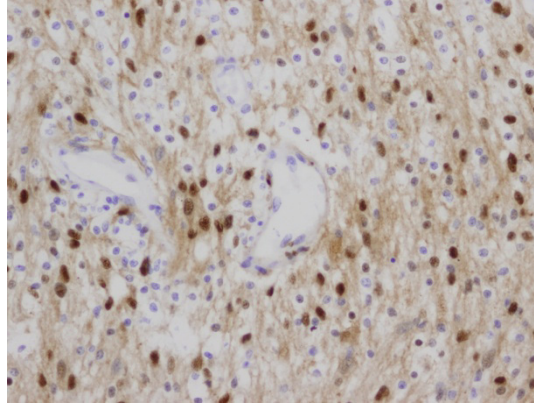


Foto 23. Preparación histológica en la que se observan grandes núcleos degenerativos con tinción inmunohistoquímica positiva para ciclina D1

6.2.2. Citoplasmáticos

Encontramos cambios degenerativos en el citoplasma de trece de los 64 tumores (20,3%). No hallamos cambios en el citoplasma de los 51 tumores restantes (79,7%).

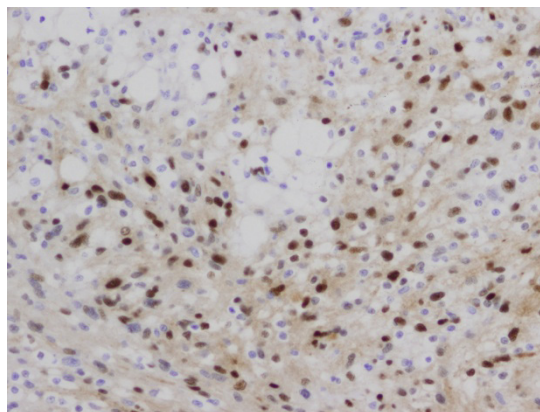


Foto 24. Corte histológico en el que se aprecian macrófagos en el estroma del tumor

7. Factores moleculares

7.1. Ciclina D1

Se realizaron estudios inmunohistoquímicos para evaluar la presencia de ciclina D1 en 64 tumores. Como resultado, 43 tumores (67,2%) expresaban ciclina D1 y 21 (32,8%) no (figura 6). Los tumores positivos para ciclina D1 mostraban un patrón de inmunorreactividad principalmente nuclear. Sólo algunas pocas células aisladas mostraban una débil tinción en el citoplasma.

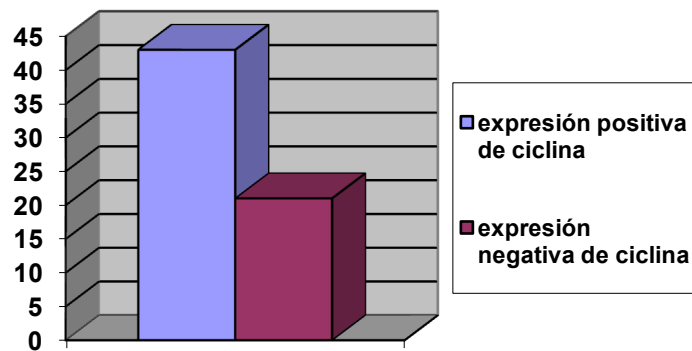


Fig.6. Expresión de ciclina

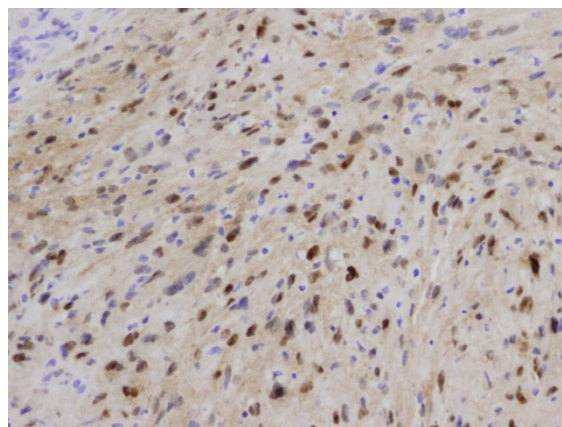


Foto 25. Corte histológico con preparación inmunohistoquímica para detección de ciclina D1, que muestra intensa tinción nuclear

8. Análisis univariante

8.1. Factores demográficos y función facial postoperatoria

No encontramos relación entre sexo y edad y función facial postoperatoria inmediata, al alta o definitiva.

8.2. Factores clínicos y función facial postoperatoria

8.2.1. Función facial preoperatoria y función facial postoperatoria

No demostramos que la función facial preoperatoria se relacione con la función facial postoperatoria inmediata, al alta o definitiva.

8.2.2. Función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva

Las funciones faciales postoperatorias inmediata, al alta y última se relacionan entre sí. Una buena función facial inmediata se asocia con una buena función facial definitiva ($p=0,0001$, tabla 4). Una buena función facial al alta se asocia con una buena función facial definitiva ($p=0,0001$, tabla 5).

		F. facial postoperatoria inmediata	
		1-2	3-6
F. facial postoperatoria definitiva	1-2	43	14
	3-6	4	17

$p=0,0001$

Tabla 4. Función facial postoperatoria definitiva – F. facial postoperatoria inmediata

		F. facial postoperatoria inmediata	
		1-2	3-6
F. facial postoperatoria definitiva	1-2	43	15
	3-6	2	19

p=0,0001

Tabla 5. Función facial postoperatoria definitiva – Función facial postoperatoria al alta

Estudiando la fuerza de la asociación, encontramos que la función facial al alta es mejor predictor de la función final (OR=27) que la inmediata (OR=13).

8.2.3. Audición y función facial postoperatoria

Encontramos relación entre umbral preoperatorio en el oído del schwannoma vestibular en la audiometría tonal a 250, 500, 2000 y 8000 Hz y función facial inmediata. Los pacientes con mejor umbral preoperatorio a 250, 500, 2000 y 8000 Hz presentan mejor función facial postoperatoria inmediata (p=0,008, p=0,016, p=0,042 y p=0,016, respectivamente, tabla 6).

	Función facial postoperatoria inmediata	
	1-2	3-6
Umbral preoperatorio a 250 Hz (p=0,008)	32,68 dB	46,43 dB
Umbral preoperatorio a 500 Hz (p=0,016)	33,18 dB	45,64 dB
Umbral preoperatorio a 2000 Hz (p=0,042)	33,95 dB	44,43 dB
Umbral preoperatorio a 8000 Hz (p=0,016)	33,20 dB	45,62 dB

Tabla 6. Audición preoperatoria y función facial postoperatoria inmediata

No demostramos relación entre preservación de la audición y función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva.

8.3. Factores radiológicos y función facial

8.3.1. Lado del tumor y función facial

No demostramos relación entre el lado del tumor y la función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva.

8.3.2. Localización del tumor y función facial

Tampoco encontramos asociación entre la localización del tumor y la función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva.

8.3.3. Tamaño tumoral y función facial

El tamaño tumoral se asocia significativamente a la función facial postoperatoria.

Un diámetro tumoral menor se asocia significativamente a una mejor función facial postoperatoria inmediata ($p=0,037$), al alta ($p=0,036$) y se acerca a la significación al relacionarlo con la función facial postoperatoria definitiva ($p=0,06$) (Tabla 7).

		Diámetro tumoral máximo (mm)
Función facial postoperatoria inmediata (p=0,037)	1-2	35,16
	3-6	46,08
Función facial postoperatoria al alta (p=0,036)	1-2	35,31
	3-6	46,21
Función facial postoperatoria definitiva (p=0,067)	1-2	37,1
	3-6	47,86

Tabla 7. Diámetro tumoral - Función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva
(Mann-Whitney)

Asimismo, un volumen tumoral menor se asocia significativamente a una buena función facial postoperatoria inmediata (p=0,046), al alta (p=0,004) y definitiva (p=0,043) (Tabla 8).

		Volumen tumoral (mm ³)
F. facial postoperatoria inmediata (p=0,046)	1-2	35,35
	3-6	45,79
F. facial postoperatoria al alta (p=0,004)	1-2	32,92
	3-6	48,01
F. facial postoperatoria definitiva (p=0,043)	1-2	36,35
	3-6	48,05

Tabla 8. Volumen tumoral - Función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva
(Mann-Whitney)

El diámetro tumoral se relaciona con la intensidad de estimulación del nervio al final de la cirugía ($p=0,005$). A mayor diámetro, mayor intensidad de estimulación necesaria.

8.4. Factores quirúrgicos y función facial

El abordaje quirúrgico empleado en cada caso (vía translaberíntica, retrosigmoidea o transtemporal) no demostró influencia en la función facial postoperatoria.

8.5. Factores electrofisiológicos y función facial

Un umbral de estimulación del nervio facial menor de 0,05 mA al término de la cirugía se asocia a una mejor función facial postoperatoria inmediata ($p=0,0001$), al alta ($p=0,014$) y definitiva ($p=0,000$) (Tabla 9).

		Conducción facial	
		$\leq 0,05$	$>0,05$
F. facial postoperatoria inmediata ($p=0,0001$)	1-2	73,3%	11,8%
	3-6	26,7%	88,2%
F. facial postoperatoria al alta ($p=0,014$)	1-2	63,9%	29,4%
	3-6	36,1%	70,6%
F. facial postoperatoria definitiva ($p=0,0001$)	1-2	83,6%	35,3%
	3-6	16,4%	64,7%

Tabla 9. Conducción facial – Función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva

El umbral de estimulación predice mejor la función facial inmediata ($OR=21$) que la definitiva ($OR=9$).

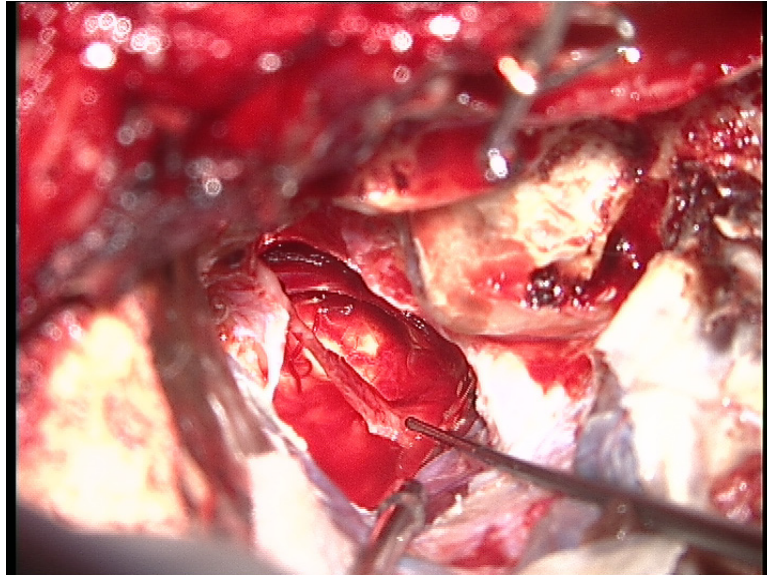


Foto 26. Estimulación intraoperatoria del nervio facial en su salida del tronco del encéfalo

8.6. Factores anatomopatológicos y función facial

No encontramos relación entre el tipo de Antoni ni la presencia o ausencia de cambios degenerativos en el citoplasma o en el núcleo y la función facial postoperatoria inmediata, al alta o definitiva.

El tipo de Antoni y el diámetro máximo se relacionan significativamente entre sí ($p=0,017$). Los tumores tipo A de Antoni son menores que los tipo B y mixtos.

El diámetro tumoral y la presencia de degeneración citoplasmática y nuclear se asocian significativamente ($p=0,035$ y $p=0,007$, respectivamente). Los tumores con cambios degenerativos en el citoplasma y en el núcleo son mayores que los que no presentan dichos cambios.

8.7. Expresión de ciclina D1 y función facial

Hallamos una relación significativa ($p=0,035$) entre la expresión de ciclina D1 y la función facial postoperatoria definitiva (Tabla 10). Los pacientes con tumores que expresan ciclina D1 presentan con mayor frecuencia mejor función facial definitiva (grados 1-2 de la clasificación de House-Brackmann).

		Función facial postoperatoria definitiva ($p=0,035$)		Total
		1-2	3-6	
Expresión de ciclina D1	Negativa	12	10	22
	Positiva	33	7	40
Total		45	17	62

Tabla 10. Expresión de ciclina D1 – Función facial postoperatoria definitiva

La expresión de ciclina D1 se asocia a la presencia de cambios degenerativos citoplasmáticos ($p=0,045$) y nucleares ($p=0,003$) (Tabla 11). Encontramos una relación significativa ($p=0,46$) entre la expresión positiva de ciclina D1 y la localización del tumor en el lado derecho (Tabla 12).

		Expresión de ciclina D1	
		Positiva	Negativa
Degeneración citoplasmática ($p=0,045$)	No	31	20
	Sí	12	1
Degeneración nuclear ($p=0,003$)	No	26	20
	Sí	17	1

Tabla 11. Degeneración citoplasmática y nuclear y expresión de ciclina D1

		Ciclina		Total
		Negativa	Positiva	
Lado	Dcho	8	12	20
	Izdo	13	5	18
Total		21	17	38

Tabla 12. Expresión de ciclina D1 y lado del tumor

9. Análisis multivariante

Realizando un análisis de regresión logística multivariante, en la probabilidad de obtener buen resultado facial influyen la conducción facial $\leq 0,05$ ($p=0,0038$), el volumen tumoral ($p=0,0410$) y la expresión de ciclina positiva, en el límite de la significación ($p=0,066$). La odds ratio (OR) para cada uno sería 14,157 para la conducción facial (intervalo de confianza 2,358-85,003, significativo), que es el factor predictivo más importante, seguido del volumen tumoral, $OR=0,899$ (intervalo de confianza 0,812-0,996, por tanto significativo) y por último de la ciclina D1, $OR=0,246$ (intervalo de confianza 0,055-1,097, significativo). La conducción facial $<0,05$ al final de la cirugía aumenta 7 veces la probabilidad de tener un buen resultado facial, independientemente del tamaño. El tamaño interactúa con la conducción facial y con la ciclina D1. La ciclina D1, añadida a la conducción y al tamaño, aumenta el área bajo la curva, de forma cercana a la significación ($p=0,066$).

Basándonos en estos resultados, elaboramos un modelo matemático para determinar la probabilidad de conseguir un buen resultado facial tras la cirugía del schwannoma vestibular.

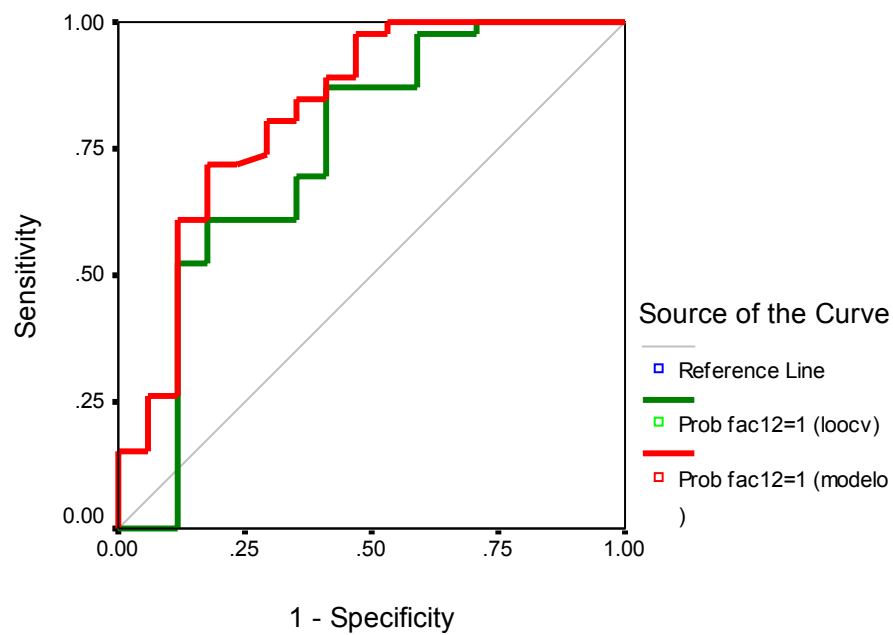
$$\text{Pr (resultado bueno, facial 1-2)} = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

Siendo $z = 0,0514 - 0,107 \times \text{volumen tumoral} - 1,404 \times \text{ciclina D1 negativa} + 2,65 \times \text{conducción facial} \leq 0,05$

Este modelo nos proporciona un área bajo la curva de 0,823, estadísticamente significativo.

Validamos el modelo mediante validación cruzada por el método LOOCV (*leave-one-out cross validation*), obteniendo un área bajo la curva ligeramente menor, de 0,742, pero también estadísticamente significativo.

En conclusión, se confirma que el volumen tumoral y la conducción al final de la cirugía son factores predictivos del resultado facial. La ciclina D1 aumenta el área bajo la curva al incorporarla al modelo. Esto es, a igualdad de conducción facial (que es el factor más importante) y de volumen tumoral, la ciclina D1 positiva o negativa puede predecir el resultado facial.



En la figura apreciamos las curvas ROC del modelo (en rojo) y del modelo validado mediante el método de validación cruzada (en verde). El área bajo la curva en verde es menor que bajo la curva en rojo, lo que significa que la relación especificidad-sensibilidad es peor en el caso del modelo validado, pero se mantiene su significación estadística. En resumen, validando el modelo para su aplicación en la práctica clínica, sigue teniendo validez estadística, igual que para nuestros 64 pacientes.

DISCUSIÓN

1. Evaluación de la función facial

Pese a sus limitaciones, la clasificación de House-Brackmann⁵¹ es la más utilizada en la literatura otoneurológica para comparar la función facial de los pacientes. Este año se ha publicado una nueva escala de función facial⁵³, que intenta resolver las principales deficiencias de la previa. En concreto, asignando una puntuación del 1 al 6 a cuatro regiones faciales distintas (ceja, ojo, surco nasolabial y boca), se eliminan las confusiones que se producían con la clasificación anterior cuando dos regiones presentaban grados distintos y la puntuación se daba de forma global. Por otra parte, la presencia de sincinesias y espasmos se gradúa sólo de 0 a 3, para limitar su impacto en la puntuación total (Tabla 13). Debido a que aun no se ha generalizado su uso, nuestros resultados de función facial están cuantificados según la clasificación previa.

Región				
Puntuación	Frontal	Ojo	Surco nasolabial	Boca
1	Normal	Normal	Normal	Normal
2	Leve debilidad Función >75%	Leve debilidad Función >75% Cierre completo con poco esfuerzo	Leve debilidad Función >75%	Leve debilidad Función >75%
3	Debilidad obvia Función >50% Simetría en reposo	Debilidad obvia Función >50% Cierre completo con máximo esfuerzo	Debilidad obvia Función >50% Simetría en reposo	Debilidad obvia Función >50% Simetría en reposo
4	Asimetría en reposo Función <50%	Asimetría en reposo Función <50% Cierre incompleto	Asimetría en reposo Función <50%	Asimetría en reposo Función <50%
5	Movimiento residual	Movimiento residual	Movimiento residual	Movimiento residual
6	No hay movimiento	No hay movimiento	No hay movimiento	No hay movimiento
Movimientos aberrantes				
Puntuación	Grado de movimiento			
0	Ninguno			
1	Leves sincinesias, espasmos mínimos			
2	Sincinesias obvias, espasmos leves a moderados			
3	Sincinesias desfigurantes, espasmo grave			
Resultado: suma de las puntuaciones de cada región y de los movimientos aberrantes				
Grado		Puntuación total		
I		4		
II		5-9		
III		10-14		
IV		15-19		
V		20-23		
VI		24		

Tabla 13. Escala de función facial 2.0 (tomado de FACIAL NERVE DISORDERS COMMITTEE, 2009)

2. Resultados de función facial postoperatoria

Por su proximidad al VIII PC, el nervio facial es susceptible de ser dañado por distintos mecanismos. Algunos pacientes con función facial normal presentan una disfunción preoperatoria subclínica, que puede ser demostrada en la electromiografía. Durante la cirugía, el facial puede lesionarse de forma inmediata por mecanismos físicos (manipulación, estiramiento o sección). También puede sufrir daños térmicos o vasculares. El nervio facial está irrigado por tres arterias: la arteria laberíntica, rama de la arteria cerebelosa anteroinferior; la rama petrosa superficial mayor de la arteria meníngea media; y la arteria estilomastoidea, rama de la arteria auricular posterior. Las alteraciones diferidas de la función facial pueden deberse a atrapamiento del nervio en el foramen meatal, edema o vasoespasma.

Los adelantos en el diagnóstico y en las técnicas quirúrgicas han mejorado los resultados de preservación auditiva y facial¹. Revisando los resultados de preservación auditiva y facial en la literatura, las cifras varían dependiendo de qué considera cada autor que es preservar la función. Para la mayoría de los autores, se considera una función facial buena un grado 1-2 en la escala de House-Brackmann³⁰. Samii⁴⁷ publica un 98.5% y un 81% de preservación anatómica y funcional, respectivamente, del nervio facial en 200 pacientes intervenidos mediante un abordaje suboccipital. Arts⁴⁶ consigue una función facial postquirúrgica satisfactoria en el 96% de 73 pacientes intervenidos por fosa media. Jacob¹, en un estudio de 109 pacientes, encuentra una función facial postoperatoria grado 1-3 de House-Brackmann en el 95% de pacientes con tumores originados en el nervio vestibular inferior, y en el 100% de los pacientes

con schwannoma vestibular del nervio vestibular superior. La diferencia no fue estadísticamente significativa, por lo que concluyó que el nervio de origen no afectaba significativamente a los resultados de función facial. Cardoso² preserva la función facial en el 85% de los pacientes con buena función preoperatoria, independientemente del tamaño de la lesión (grados 1 al 3 de House-Brackmann), y en el 100% de los pacientes con tumores menores de 3 cm de diámetro. En la publicación de Jacob¹, más del 90% de los pacientes presentaban una función facial grado 1-3 en la escala de House-Brackmann al final del seguimiento. Esquia-Medina⁵⁴ consigue una función facial grados 1-2 de House-Brackmann en el 73% de los pacientes.

Como se mencionó con anterioridad, la elección del tratamiento del schwannoma vestibular es difícil, y es importante, a la hora de aconsejar al paciente, proporcionarle nuestros resultados, mejor que los publicados en la literatura. En nuestro estudio, incluyendo todos los tamaños y localizaciones tumorales, el 74% de los pacientes presentaban una función facial excelente un año después de la cirugía (grados 1-2 de House-Brackmann), cifra comparable a la obtenida por diversos autores con experiencia en este campo⁵⁵⁻⁵⁹.

Pese a las secuelas físicas y emocionales que supone para el paciente una parálisis facial, en los estudios de calidad de vida realizados por nuestro grupo, llama la atención que sea una secuela postquirúrgica más, y no siempre la que más afecte a la calidad de vida del paciente intervenido de schwannoma vestibular. Estos estudios sugieren una posible sobrestimación del efecto de la función facial postquirúrgica en la calidad de vida por parte del cirujano, y nos recuerdan la necesidad de informar al paciente de la existencia de otras secuelas como la hipoacusia y el acúfeno. La hipoacusia se asume como una secuela inherente a la cirugía, más aún en pacientes

con alteraciones auditivas previas o con tumores grandes, en los que habitualmente se desestiman los abordajes potencialmente conservadores de la audición. No obstante, muchos de estos pacientes con hipoacusia previa encuentran afectada su calidad de vida por el empeoramiento auditivo tras la cirugía⁶⁰. El acúfeno es una secuela que frecuentemente se minusvalora, pero que repercute significativamente en la calidad de vida⁶¹. De acuerdo con la literatura, el efecto de la cirugía sobre el acúfeno es imprevisible, y no depende del tipo de abordaje quirúrgico ni de la preservación o no de la audición^{13,14,16}. Contrariamente a lo que pudiera parecer, ni la destrucción del oído interno que conlleva la vía translaberíntica, ni la sección del nervio coclear hacen desaparecer el acúfeno^{13,14}. Aunque la etiopatogenia del acúfeno no es bien conocida, estos hechos apoyan la teoría de Möller¹⁷, según la cual el acúfeno se origina por un fenómeno de reorganización neural en los centros auditivos superiores. Esta reorganización es provocada por la actividad anómala del nervio coclear afectado por el schwannoma. Cuando se secciona el nervio, estos cambios en los centros auditivos superiores se mantienen, y por tanto también el acúfeno.

3. Factores predictivos

3.1. Factores demográficos

Las características demográficas de los pacientes estudiados son equiparables a los de los distintos estudios acerca del tema^{1,2,30,47}. Al igual que otros autores en estudios similares al nuestro, no encontramos relación entre la edad y el sexo de los pacientes y la función facial que presentaron tras la cirugía^{28,30}.

3.2. Factores clínicos

3.2.1. Tamaño tumoral

Para determinar el tamaño tumoral realizamos dos mediciones distintas: el diámetro máximo del tumor en los distintos cortes de la resonancia magnética, que es la medida empleada tradicionalmente en las publicaciones sobre schwannoma vestibular, y el volumen tumoral. El volumen tumoral ha sido propuesto en los últimos años como una aproximación más exacta al tamaño tumoral real. Caye-Thomasen⁵² emplea el volumen tumoral para cuantificar con mayor exactitud la tasa de crecimiento de los schwannomas vestibulares sometidos a seguimiento periódico. Para ello, aproxima la forma del tumor a una elipsoide, y calcula el volumen mediante la fórmula descrita en Material y Métodos, puesto que es la que hemos empleado en este trabajo. En un estudio acerca del tamaño tumoral como factor predictivo del resultado auditivo postquirúrgico, Gjuric y sus colaboradores⁶² encontraron que el tamaño, medido como volumen, era el único factor pronóstico del resultado auditivo postoperatorio que alcanzaba la significación estadística. En cambio, al emplear el diámetro máximo del tumor, la relación no era significativa, por lo que estos autores concluyen que la determinación volumétrica es la aproximación más adecuada al tamaño del schwannoma vestibular.

El tamaño tumoral es un importante factor predictivo de la función facial postoperatoria, tanto en nuestro estudio como en la literatura^{28-31,50,54,63}. La razón es fácilmente comprensible: los tumores grandes dificultan la visualización del nervio, distorsionan la anatomía normal del ángulo pontocerebeloso y dificultan la disección de la lesión. Así, Cardoso² preserva la función facial en el 85% de los pacientes,

independientemente del tamaño de la lesión (grados 1 al 3 de House-Brackmann) y en el 100% de los pacientes con tumores menores de 3 cm de diámetro.

Medimos el tamaño tumoral como diámetro máximo y como volumen tumoral. Al realizar las pruebas estadísticas, observamos que el volumen tumoral se correlacionaba mejor con la función facial postoperatoria inmediata, al alta, y sobre todo definitiva, que el diámetro máximo, por lo que optamos por incluir el volumen, en lugar del diámetro máximo, como aproximación más exacta al tamaño del tumor, tanto en el análisis multivariante como en el modelo predictivo. No obstante, las diferencias entre una determinación del tamaño y la otra no son clínicamente relevantes, y el cálculo del volumen, tal y como lo realizamos, complicado y tedioso para la práctica diaria. No hay consenso entre los expertos en cuanto al modo más adecuado de medir el tamaño tumoral. La mayoría coinciden en que el volumen es más exacto que el diámetro máximo, pero poco práctico para uso clínico si hay que calcularlo mediante fórmulas que requieran la medida de varios diámetros. Algunos radiólogos, mediante programas informáticos integrados en el equipo de resonancia magnética, proporcionan directamente el volumen tumoral en sus informes, y tal vez ésta sea la solución más sencilla.

3.2.2. Función facial preoperatoria

La afectación clínica preoperatoria de la función facial fue muy poco frecuente, como es habitual en los schwannomas vestibulares en el momento del diagnóstico¹⁹. Aunque en la literatura la ausencia o corta duración de disfunción facial previa aparece como un factor pronóstico del resultado final de preservación de la función facial^{2,28-31}, nosotros no hemos podido demostrar relación entre la función facial preoperatoria y la

función facial final, tal vez debido al pequeño número de pacientes que presentaban una función facial preoperatoria alterada, aunque sí encontramos una tendencia de los pacientes con función facial preoperatoria alterada a presentar peor función facial postquirúrgica que los pacientes sin disfunción facial previa.

3.2.3. Audición

En el estudio de Shamji³⁰, la corta duración de la hipoacusia se relacionó de forma independiente con un resultado positivo de preservación de la función facial. En nuestro estudio, encontramos relación entre un mejor umbral audiométrico preoperatorio a 250, 500, 2000 y 8000 Hz y una mejor función facial en el postoperatorio inmediato.

En el estudio que realizamos en 2006⁶ hallamos una relación significativa entre la audición y la función facial preoperatoria. Una mayor pérdida auditiva se correspondía con una peor función facial. De forma análoga, en el mismo estudio encontramos que la ausencia de reflejo corneal en el preoperatorio se asociaba significativamente a un mayor grado de hipoacusia. Una posible explicación a estas observaciones es que algunos schwannomas afectan con mayor frecuencia a los pares craneales adyacentes, por un mecanismo independiente del tamaño tumoral. Si bien no hay una razón conocida que explique esta “susceptibilidad” de los nervios o “invasividad” del tumor, es bien conocido que un importante factor pronóstico para la conservación de los nervios durante la cirugía es su adherencia al tumor. Supusimos entonces que esta adherencia podría explicar la relación entre la función prequirúrgica de los pares craneales V, VII y VIII, por mecanismos moleculares aun no conocidos, y suponemos ahora que esta adherencia pudiera explicar la asociación entre mejor audición

preoperatoria y mejor función facial inmediata tras la cirugía. Shamji³⁰ señala la falta subjetiva de adherencia del tumor al facial como factor pronóstico independiente de un resultado de preservación postquirúrgica de función facial positivo en el análisis multivariante. Esquia-Medina⁵⁴ encuentra, tanto en el análisis univariante como en el multivariante, que la adherencia del tumor al nervio facial, así como el desplazamiento del nervio producido por el tumor, son factores predictivos significativos de función facial postoperatoria. En su estudio, la adherencia del tumor al nervio facial fue clasificada por el cirujano intraoperatoriamente como “débil”, “intermedia” o “fuerte”, de forma subjetiva, al igual que en el trabajo de Shamji. Lógicamente, la subjetividad de esta medición limita su validez.

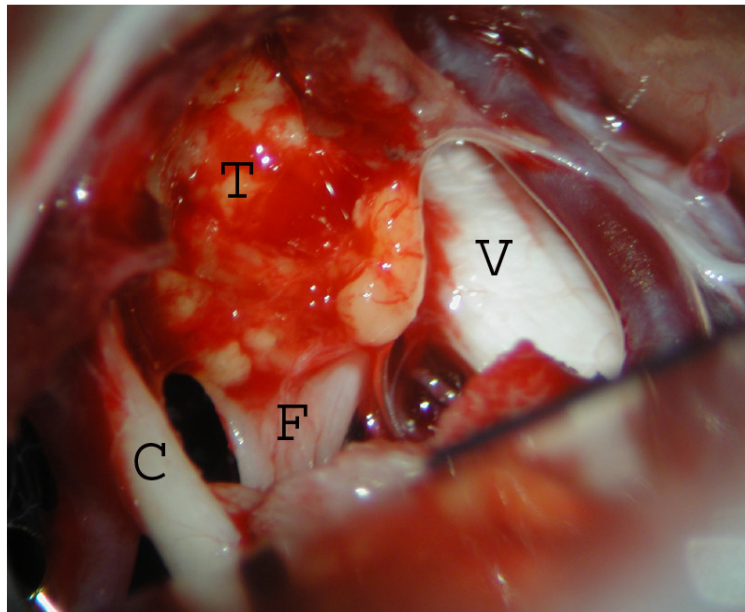


Foto 27. Foto quirúrgica que muestra la estrecha relación del schwannoma vestibular con los nervios trigémino, facial y coclear (V: nervio trigémino; F: nervio facial; C: nervio coclear; T: tumor)

3.2.4. Abordaje quirúrgico

No encontramos diferencias en la preservación de la función facial en función del abordaje efectuado. Isaacson⁶⁴ compara los resultados del abordaje transtemporal y translaberíntico y no encuentra diferencias en cuanto a función facial. Jacob¹ encuentra una función facial postoperatoria grado 1-3 de House-Brackmann en el 96% de los pacientes intervenidos por vía suboccipital, en el 94% de los abordajes transtemporales y en el 88% de los translaberínticos, pero en su trabajo la diferencia tampoco fue significativa. Cardoso² preservó la función facial en el 85% de 240 pacientes intervenidos por vía retrosigmoidea. Shamji³⁰ defiende que el abordaje translaberíntico produce pérdida de audición, pero proporciona una exposición excelente del nervio facial con muy poca retracción cerebelosa. Afirma que esta vía permite preservar la continuidad anatómica del nervio facial en un 95% de los casos, y que empleando dicho abordaje se han descrito resultados aceptables en el 64-90% de los pacientes previamente asintomáticos, aunque en ocasiones se produce un deterioro postquirúrgico transitorio. Aporta los resultados de un estudio retrospectivo de 128 pacientes consecutivos intervenidos por vía translaberíntica. Recomendamos realizar la enucleación de la masa tumoral extrameatal empleando un aspirador quirúrgico ultrasónico para reducir la presión sobre las estructuras adyacentes, y posteriormente retraer la cápsula tumoral y disecarla a través del plano subaracnoideo, con el objetivo de evitar lesionar el aporte sanguíneo microvascular subaracnoideo al nervio facial. El 87% de los pacientes con función facial preoperatoria normal tuvieron resultados aceptables (función facial grado 1-2 de House-Brackmann).

Coincidimos con Shamji en la importancia de disecar el tumor en el plano entre la aracnoides y la cápsula tumoral, ya que es la forma más segura de liberar el nervio

facial y de evitar lesiones de las restantes estructuras neurovasculares del ángulo pontocerebeloso. El problema es que en algunos casos la adhesión de la cápsula a la aracnoides impide completar la disección en este plano.

3.3. Factores electrofisiológicos

Para el registro electromiográfico del nervio facial empleamos un sistema de dos canales, uno para el músculo orbicular de los ojos y otro para el músculo orbicular de la boca, como se ha descrito en Material y Métodos. Aunque existen en el mercado sistemas de registro electromiográfico para monitorización neural intraoperatoria de cuatro canales (para el músculo orbicular de los ojos, el músculo orbicular de la boca, el músculo frontal y el músculo platisma), el estudio que realizó Grayeli⁶⁵ empleando este sistema no demostró grandes ventajas con respecto al sistema de dos canales, ya que en el 73% de los casos la máxima respuesta electromiográfica se registró en el orbicular de los ojos o de la boca, que son recogidos igualmente por el sistema de dos canales.

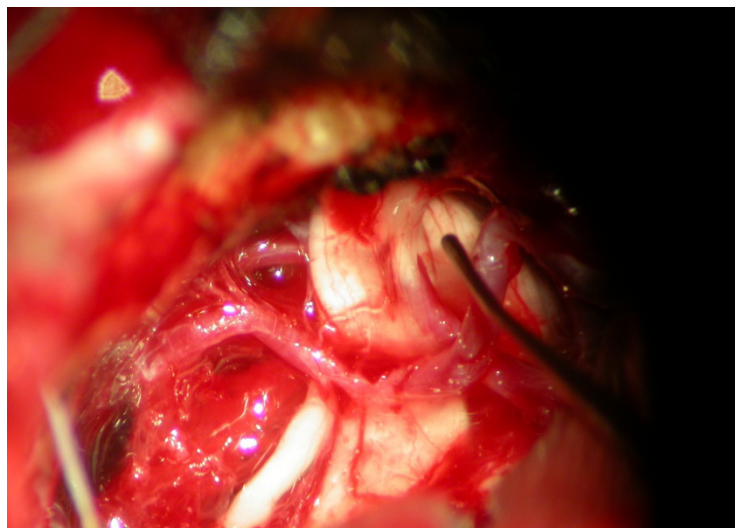


Foto 28. Disección de un schwannoma vestibular identificando el nervio facial con ayuda del estimulador

Un umbral de estimulación del nervio facial en su salida del tronco del encéfalo al final de la intervención menor de 0,05 mA se asocia a una mejor función facial postoperatoria inmediata, al alta y definitiva, aunque predice mejor la función facial inmediata que la definitiva.

Grayeli⁶⁵ concluye que un umbral de estimulación del nervio facial al término de la cirugía menor de 0,05 mA tiene valor pronóstico positivo para la preservación de la función facial. Este autor estimula al nervio facial en la zona proximal, en su salida del tronco del encéfalo, en la zona donde se adhiere al tumor, y en su extremo distal. En su estudio, la función facial postoperatoria se relacionó con los umbrales de estimulación intraoperatoria del nervio (rango 0,01–3 mA) cerca del tronco del encéfalo (umbral de estimulación proximal) y con la relación de umbrales de estimulación proximal y distal. Un umbral de estimulación proximal de entre 0,01 y 0,04 mA tenía un valor predictivo positivo de 94% para una función facial postoperatoria buena (grados 1 o 2 de House-Brackmann). El umbral de estimulación proximal era menor en los pacientes cuya función facial mejoraba o permanecía estable en el postoperatorio en comparación con el de los pacientes con empeoramiento tardío de la función facial entre los días 8 al 30 del postoperatorio. Así pues, el umbral de estimulación en el extremo proximal del nervio, que es el estudiado en esta tesis, es el que presenta un mayor valor pronóstico de la función facial postoperatoria a largo plazo para este autor. El umbral de estimulación en la zona de adherencia del nervio facial al tumor se asociaba a la función facial postquirúrgica inmediata⁶⁵. Aunque la función facial inmediata sea menos interesante que la definitiva, la determinación intraoperatoria del umbral de estimulación en la zona de

adherencia del nervio facial al tumor es sencilla y no añade apenas tiempo quirúrgico, por lo que recientemente la hemos incluido en nuestra práctica.

En el análisis univariante de nuestro trabajo, el tamaño tumoral se relaciona con la intensidad de estimulación proximal del nervio al final de la cirugía: a mayor tamaño, mayor intensidad de estimulación necesaria. Es por ello que realizamos un análisis multivariante incluyendo el tamaño (medido como volumen tumoral), el umbral de estimulación intraoperatoria del nervio y la expresión de ciclina D1, para eliminar factores de confusión y cuantificar cuánto aporta cada factor al modelo predictivo de resultado facial, puesto que los tres se relacionan entre sí en el análisis univariante y son los tres factores pronósticos más importantes que hallamos en nuestros pacientes.

3.4. Factores anatomopatológicos

No encontramos relación entre el tipo de Antoni ni la presencia o ausencia de cambios degenerativos en el citoplasma o en el núcleo y la función facial postoperatoria inmediata, al alta o definitiva.

Los tumores tipo B de Antoni y mixtos son mayores que los tipo A. Asimismo, los tumores con cambios degenerativos en el citoplasma y en el núcleo son mayores que los que no presentan dichos cambios. Se ha considerado que el tejido tipo B de Antoni puede ser una forma degenerativa del tejido tipo A²². Parece lógico suponer que los cambios degenerativos aparecerán con más probabilidad cuanto más antiguas sean las células tumorales. Por tanto, una posible explicación a la aparición de tejido tipo B y mixto y cambios degenerativos celulares en los tumores de mayor tamaño, es que se trate de tumores más antiguos, que han tenido más tiempo para experimentar cambios degenerativos.

3.5. Factores moleculares. Expresión de ciclina D1

La ciclina D1 es una proteína reguladora clave del punto de control G1/S del ciclo celular, de gran importancia en la regulación del ciclo celular normal y en la biología molecular de diversos tumores. Está codificada por el gen CCND1, PRAD1 o bcl-1, localizado en el cromosoma 11q13. La amplificación de este protooncogen o la sobreexpresión de ciclina D1 liberan a la célula del control normal de crecimiento y producen transformación tumoral.

La CDK-ciclina D1 fosforila los sustratos requeridos para desencadenar la progresión del ciclo celular, por lo que su actividad está estrechamente regulada para prevenir su inactivación inapropiada. La ciclina D1 es un importante regulador de la transición de la fase G1 (de reposo) a la S (síntesis de ADN) del ciclo celular en diversos tipos celulares de distintos tejidos. Las ciclinas D presentan actividad CDK-dependiente y CDK-independiente.

En la vía CDK-dependiente, la ciclina D1 se une a las kinasas dependientes de ciclina 4 y 6 (CDK 4/6), formando un complejo activo que fosforila a la proteína supresora del retinoblastoma (Rb). Además, la interacción ciclina D-CDK 4/6 secuestra a las familias de inhibidores de CDK CIP/KIP (p21 y p27) e INK4 (p15, p16, p18 y p19), hecho que causa la liberación del holoenzima ciclina E-CDK2 para inactivar a la proteína Rb fosforilada. La hiperfosforilación de Rb produce la liberación del factor de transcripción E2F secuestrado por Rb y la consiguiente expresión de los genes requeridos para la entrada en la fase S.

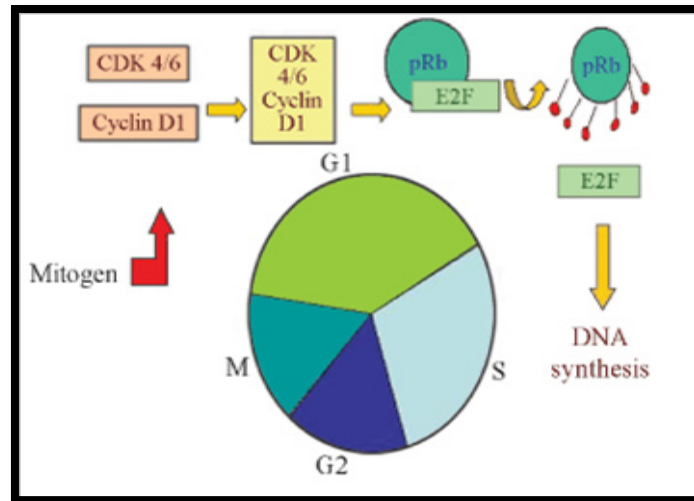


Foto 29. Vía CDK-Rb y ciclina D1. Modificado de Neff 2006⁴⁴

Recientemente, se ha visto que la ciclina D1 actúa también como cofactor para varios factores de transcripción, independientemente de su actividad CDK. Se desconoce cómo las células integran la actividad CDK-dependiente y la CDK-independiente de la ciclina D1⁶⁶.

Los estudios iniciales indicaron que la ciclina D1 se localiza predominantemente en el núcleo de las células en crecimiento⁶⁷. Durante la progresión del ciclo celular, los niveles de ciclina empiezan a elevarse rápidamente en G1, previamente a su rápida exportación nuclear y a su degradación en el citoplasma. Es interesante reseñar que para la progresión de la fase S se requiere la exportación del núcleo y la degradación de la ciclina D1, ya que el fallo en la eliminación de la ciclina produce detención del ciclo en G1. La exportación nuclear de la ciclina D1 requiere su fosforilación previa en la Thr-286 por la kinasa de la glucógeno sintasa 3 β (GSK3 β)⁶⁶.

Estudios en neuronas postmitóticas indican que la actividad de la ciclina D1 puede regularse a través de su secuestro citoplasmático. En estas células, la localización nuclear forzada de la ciclina D1 induce apoptosis. El secuestro citoplasmático evita la

apoptosis en las neuronas. Es pues posible que la localización subcelular de la ciclina D1 desempeñe un papel destacado en la regulación de la supervivencia celular. De hecho, los resultados de Alao y colaboradores⁶⁶ sugieren que el secuestro citoplasmático de la ciclina podría además ser un mecanismo de regulación de la actividad de la ciclina D1 en células tumorales de mamíferos. Este secuestro citoplasmático podría ser resultado de la inhibición de la importación nuclear de la ciclina. Los mecanismos de importación nuclear de la ciclina no son aún bien conocidos.

En nuestro estudio el patrón de tinción de la ciclina D1 era predominantemente nuclear. Por tanto, en los tumores que expresan ciclina D1, esta molécula se encuentra en la localización subcelular en la que ejerce su acción promotora de la división celular, liberando al factor de transcripción E2F y promoviendo así la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y la progresión del ciclo celular.

3.5.1. Regulación de la expresión de ciclina D1

La expresión oportuna y eficiente de ciclina D1 durante G1 requiere una “licencia para replicarse” consistente en diversas señales moleculares^{68,69} cuyo objetivo es minimizar las lesiones en el ADN y la tumorigénesis controlando la replicación.

La síntesis de las ciclinas, su localización nuclear y su degradación son mecanismos de control de la transición G1-S, pero la regulación de la importación nuclear del complejo ciclina D-CDK también contribuye a dicha transición⁷⁰.

3.5.2. Merlin y ciclina D1

Xiao⁷¹ encontró que la expresión mediada por adenovirus de la proteína merlin en células tumorales con alteraciones en el gen NF2 inhibe la proliferación celular y

detiene el ciclo en G1, a la vez que produce disminución de la expresión de ciclina D1, inhibición de la actividad CDK4 y defosforilación de pRB. Este efecto de la proteína merlin en el ciclo celular se perdía parcialmente induciendo la expresión ectópica de ciclina D1. En experimentos de interferencia de RNA, este autor observó que el silenciamiento del gen NF2 conduce a la sobreexpresión de ciclina D1 y a la entrada en fase S. También vio que la actividad estimuladora de PAK1 sobre el promotor de ciclina D1 se inhibía con la expresión de merlin. Xiao concluyó que merlin ejerce su acción antiproliferativa, al menos en parte, reprimiendo la expresión de ciclina D1 inducida por PAK.

3.5.3. Expresión diferencial de ciclinas según el tipo celular

El modelo de regulación del ciclo celular más generalizado es la expresión secuencial de ciclinas D, E, A y B y la activación de CDK2 y 1. Se asume que este modelo es aplicable a células in vivo e in vitro, pero Xie⁷² observó que el patrón de expresión de ciclinas y de actividad de CDK en las células de médula ósea (células madre) in vivo es distinto del observado en las células in vitro. Este autor afirma que es probable que, durante su fase proliferativa, la progresión del ciclo celular de las células de la médula ósea esté pre-programada, y sea conducida solamente por CDK1 combinada con ciclina A o B. La expansión de las células madre puede no requerir los pasos iniciales de la regulación del ciclo celular, pasos que dependen de estímulos para su progresión, como factores de crecimiento o mitógenos.

3.5.4. Ciclina D1 y ciclo celular en células neurales

Las distintas ciclinas son reguladores de G1/S implicadas en la diferenciación de las células embrionarias pluripotenciales. Durante la diferenciación endodérmica se

forman complejos kinasa-ciclina D2/D3 inactiva-CDK4-p27. La diferenciación neural induce específicamente ciclina D1 a expensas de ciclina D3 y conduce a la formación de complejos ciclina D1/D2-CDK4-p27. La diferenciación se acompaña de acúmulo citoplásmico de ciclinas D y CDK4/6. Las isoformas de ciclina D se usan de forma específica en cada línea celular y forman complejos con CDK4/6 en el citoplasma de las células diferenciadas. La función de CDK4 y 6 es distinta⁷³.

Varios estudios sugieren un importante papel de las ciclinas D en el control de la proliferación de las células de Schwann. Los ratones que no expresan ciclina D1 presentan alteraciones en el crecimiento de las células de Schwann maduras⁷⁴. La respuesta proliferativa de dichas células al AMPc y al factor de crecimiento derivado de plaquetas parece estar mediada por ciclina D1⁷⁵. Los análisis con microarrays revelan una fuerte correlación entre la proliferación de las células de Schwann y la expresión de ciclina D3. La inducción de expresión de ciclina D3 puede ser crítica en la estimulación de la proliferación de las células de Schwann por heregulina y forskolina⁷⁶⁻⁷⁸. La localización subcelular de las ciclinas D ha demostrado tener un importante papel en la regulación de la proliferación de las células de Schwann durante el desarrollo normal o en respuesta a la lesión del nervio. Las células de Schwann de los nervios mielinizados maduros expresan ciclina D1 en la región perinuclear. Tras un daño axonal, la expresión de ciclina D1 se eleva paralelamente a la proliferación de células de Schwann y se transloca al núcleo. Sin embargo, la expresión de ciclina D1 queda restringida en la región perinuclear de las células de Schwann en división durante el desarrollo normal⁴⁹.

Las vías de señalización molecular que regulan la proliferación de las células de Schwann son distintas en las diferentes etapas del desarrollo embriológico y en la edad

adulto. Así, sigue siendo un desafío desentrañar qué mitógenos, vías de señalización y proteínas del ciclo celular dirigen la proliferación en las distintas etapas de desarrollo de las células de Schwann, tema que no sólo es importante para entender la biología molecular de los nervios periféricos mielínicos, si no también para esclarecer la patogenia de las neuropatías periféricas y de los tumores de los nervios periféricos⁴⁸.

3.5.5. Ciclina D1 y schwannoma vestibular

Neff⁴⁴ ha sido el primero en investigar el papel de las ciclinas D1 y D3 en el schwannoma vestibular. No encontró positividad nuclear ni citoplasmática para ciclina D1 en 15 schwannomas vestibulares estudiados ni el tejido normal del nervio vestibular adyacente. Sí encontró una tinción positiva para ciclina D3 en 7 schwannomas vestibulares, mucho más marcada que en el tejido del nervio sano adyacente. No encontró relación entre la expresión positiva de ciclina D3 y la edad, el sexo o el tamaño tumoral. El autor concluye que es posible que la ciclina D3 esté implicada en la formación y el crecimiento del schwannoma vestibular. Dado que la ciclina D3 es importante para la proliferación de las células de Schwann, los schwannomas vestibulares que sobreexpresen ciclina D3 podrían tener más facilidad para crecer. El pequeño tamaño muestral del estudio no permite determinar si la ciclina D3 podría tener algún valor como marcador de crecimiento tumoral.

En nuestro Hospital, Lassaletta y colaboradores⁴³ evaluaron la expresión de ciclina D1 en el schwannoma vestibular y su relación con las características clínicas, radiológicas e histológicas del mismo en 21 pacientes con diagnóstico anatomopatológico de schwannoma vestibular. Para ello, se revisaron las historias clínicas, las audiometrías y las resonancias magnéticas de los 21 pacientes, se

estudiaron las características anatomopatológicas de cada tumor, incluyendo el patrón de Antoni y la presencia de cambios degenerativos nucleares y citoplásmicos, y se realizaron análisis inmunohistoquímicos con anticuerpos anticiclina D1. En el 52% de los casos se halló expresión de ciclina D1. La expresión de ciclina D1 era más frecuente en tumores derechos y en tumores con cambios degenerativos en el núcleo. Los pacientes cuyos tumores no expresaban ciclina presentaban hipoacusia de mayor duración y umbrales audiométricos más altos en 2000 Hz. Los autores concluían que la expresión de ciclina D1, presente en casi la mitad de los casos, podría desempeñar algún papel en el desarrollo del schwannoma vestibular, y que se necesitaban más estudios para entender mejor la contribución de factores histopatológicos e inmunohistoquímicos en la biología del schwannoma vestibular.

3.5.6. Ciclina D1 y otros tumores

La ciclina D1 contribuye a la progresión tumoral mediante varios mecanismos. Su sobreexpresión aumenta el crecimiento independiente de anclaje y la producción de factor endotelial de crecimiento vascular, favoreciendo la angiogénesis del tumor. Asimismo, la sobreexpresión de ciclina contribuye a la resistencia de algunas células tumorales a quimioterápicos como el cisplatino, posiblemente por infra-regulación de la expresión de Fas, ya que la vía Fas/FasL está implicada en la apoptosis inducida por algunos quimioterápicos⁷⁹.

La sobreexpresión de ciclina D1 causa alteraciones en la progresión de la fase G1 del ciclo celular, pero esta alteración es por sí sola insuficiente para producir transformación tumoral. Es lógico suponer que la ciclina D1 coopere con otros proto-oncogenes para esta transformación. De hecho, coopera con el oncogen Ras y c-Myc

en determinados modelos tumorales en ratas, así como con el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos-1 y -2 (FGFR-1 y -2). Se ha visto sobreexpresión de dichos factores en fibroblastos con sobreexpresión de ciclina D1. La sobreexpresión de FGFR-1 y -2 hace que las células sean más sensibles al factor de crecimiento básico de los fibroblastos (bFGF). El bFGF estimula el crecimiento independiente de anclaje y la invasión estromal en células tumorales con sobreexpresión de ciclina D1, debido a su sobreexpresión de FGFR-1 y -2, potenciando la progresión tumoral⁷⁹.

La ciclina D1, c-erbB-2 y el factor endotelial de crecimiento vascular (VEGF) son importantes predictores de supervivencia en los cánceres metastáticos. Los cánceres con índices más altos de expresión de ciclina D1, c-erbB-2 y VEGF tienen más capacidad de metastatizar⁸⁰.

Estudios de marcadores moleculares en el adenocarcinoma de colon sugieren que las anomalías en la vía p16-Rb1-ciclina D1 podrían ser un paso precoz durante la tumorigénesis del cáncer colorrectal esporádico⁸¹.

Las ciclinas D1 y D3 tienen capacidad de regular el receptor de andrógenos. En lo que respecta a la ciclina D1, se ha visto en cáncer de próstata en humanos que esta función reguladora se pierde⁸².

En un estudio inmunohistoquímico de marcadores tumorales (ERBB2, MYC, p16, SMAD4, MET, ciclina D1, beta-catenina y p53) en la progresión maligna del esófago de Barrett, todos los marcadores, salvo EGFR, muestran una tendencia a sobreexpresarse durante la malignización. Concretamente, la sobreexpresión de ciclina D1 y de p53 diferencia la displasia de alto grado de la displasia de bajo grado. La beta-catenina ayuda a diagnosticar la displasia de bajo grado, y p53 es el marcador más adecuado

para definir la displasia de alto grado. La ciclina D1 diferencia entre displasia de bajo y de alto grado en caso de duda⁸³.

Un polimorfismo en la ciclina D1, 870 G>A, produce sobreexpresión de la ciclina, lo que permite el crecimiento celular descontrolado. Este polimorfismo se ha asociado con aumento del riesgo para múltiples cánceres, incluido el cáncer de endometrio. El polimorfismo 870 G>A se asoció significativamente con historia familiar de cáncer colorrectal⁸⁴. En un estudio realizado en mujeres coreanas⁸⁵, se ha visto que el mismo polimorfismo, 870 G>A, se asocia significativamente a un riesgo mayor de leiomioma uterino en mujeres con índice de masa corporal mayor de 25kg/m².

En el linfoma del manto y en algunos casos de mieloma múltiple, la expresión de ciclina D1 se desregula por translocaciones cromosómicas que afectan al locus de la cadena pesada de las inmunoglobulinas⁸⁶.

Otro estudio⁸⁷ investigó la expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), la galectina 3 y la ciclina D1 en una cohorte de carcinomas serosos de ovario. La inmunotinción de ciclina D1 y de galectina 3 era significativamente menor en los cistoadenomas serosos y en los tumores ováricos serosos borderline que en los carcinomas. La inmunorreactividad de la ciclina D1 en un patrón predominantemente nuclear estaba aumentada en los carcinomas de bajo grado, pero no se relacionaba con el estadio ni con la evolución.

En un análisis de microarrays, Wiech⁸⁸ encontró una sobreexpresión significativa de ciclina D1 en el cáncer gástrico asociado al virus de Epstein Barr (VEB) pero no en el cáncer gástrico VEB negativo.

Las alteraciones genómicas de ciclina D1 (CCND1), CDK4 y CDK6 en el neuroblastoma indican que la regulación anómala del punto de control de entrada en

G1 es una alteración importante en este tumor pediátrico. El neuroblastoma depende funcionalmente de la sobreexpresión de genes reguladores de G1, entre ellos la ciclina D1, para mantener su fenotipo indiferenciado⁸⁹.

Los carcinomas renales infantiles con translocaciones Xp11.2/TFE3 muestran desregulación de componentes específicos del ciclo celular. Presentan acúmulo nuclear de ciclinas D1 y D3 en combinación con niveles elevados de inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina p21Cip1/Waf1 pero sin acúmulo de p53, p16INK4a o mdm2. Estos tumores se comportan como un tipo especial de neoplasia renal⁹⁰.

Catarino y colaboradores⁹¹ realizaron un estudio para determinar la influencia de los genotipos de ciclina D1 en la edad de aparición de los tumores asociados a virus oncogénicos. Se apreció que las personas con 2 alelos G tienen mayor susceptibilidad al desarrollo de cánceres asociados a virus oncogénicos. El tiempo de latencia para la aparición de las neoplasias asociadas a virus oncogénicos en pacientes homocigotos (GG) para la ciclina D1 (52 años) es 12 años menor al tiempo para aquellos con genotipo AG o AA (60 años). Los autores apuntan a un posible papel de la ciclina D1 como blanco para el desarrollo de nuevas estrategias para la prevención y el tratamiento del cáncer.

En el cáncer de mama se ha demostrado, mediante microarrays, una fuerte correlación positiva entre la amplificación de CCND1 (el gen que codifica la ciclina D1) y niveles elevados de expresión de ciclina D1. También se ha encontrado asociación entre la amplificación de CCND1 y la expresión de ciclina D1 y la positividad para receptor de estrógenos. De hecho, la amplificación del gen CCND1 es un factor pronóstico independiente para los pacientes con cáncer de mama receptor de estrógenos positivo⁹².

En la enfermedad de Paget extramamaria, Ki-67 y ciclina D1 se expresan en niveles significativamente mayores en las lesiones invasivas que en las lesiones in situ. La combinación de ambos marcadores se asocia aún con más fuerza que cada uno por separado a la enfermedad invasiva⁹³.

3.5.7. Ciclina D1 en otros campos de la Medicina

La sobreexpresión de CDK6, sola o en combinación con la ciclina D1, estimula la replicación de células beta pancreáticas humanas, tanto in vitro como in vivo, sin inducir muerte celular ni pérdida de función. Los prometedores resultados obtenidos en ratones diabéticos transgénicos han llevado a esperar que la replicación de células beta humanas se pueda inducir y estudiar in vivo, y apuntan hacia una posible utilidad terapéutica de CDK-6 y ciclina D1 en este campo⁹⁴.

El gen de regeneración pancreática (reg I) y la proteína que codifica derivan de las células acinares y son mitogénos para las células ductales y beta. Los análisis de microarrays y Northern han confirmado la inducción de genes de ciclina D1 y de proteína-fosfatasa-quinasa activada por mitógenos (MPK-1). Las células derivadas del páncreas expuestas a reg I crecen por activación de las vías de transducción de señal que implican a la proteína-fosfatasa-quinasa activada por mitógenos y a la ciclina D1⁹⁵.

Se ha estudiado la expresión de las proteínas controladoras del ciclo celular en condilomas anogenitales por infecciones por virus del papiloma humano (VPH) de bajo riesgo (6 y 11). La expresión de ciclina D1, aunque confinada a las células basales y parabasales, está más extendida en los condilomas que en el epitelio normal. La disrupción del ciclo celular como resultado de una infección por VPH de bajo riesgo es similar a la descrita para infecciones por VPH de alto riesgo, lo que sugiere que los

ciclos vitales de ambos grupos virales en los queratinocitos suprabasales son parecidos⁹⁶.

3.5.8. Ciclina D1 en nuestro estudio

Los pacientes con tumores que expresan ciclina D1 presentan con mayor frecuencia mejor función facial definitiva (grados 1-2 de la clasificación de House-Brackmann). En los tumores con expresión positiva, la tinción inmunohistoquímica de ciclina D1 presentaba un patrón nuclear, y el núcleo es el lugar de acción de la ciclina D1, lo que supone que en estas células positivas para ciclina D1 dicha proteína estaba activa.

Es la primera vez, en nuestro conocimiento, que se encuentra un factor molecular predictivo de función facial postquirúrgica. Llama aún más la atención el hecho de que la expresión positiva de ciclina D1, un protooncogen conocido, se asocie a resultado favorable de función facial. La adhesividad del schwannoma, como medida de la “agresividad” de un tumor benigno, ha demostrado, en la experiencia quirúrgica diaria y en los análisis estadísticos en el estudio de Shamji³⁰, ser un factor pronóstico negativo de preservación de función facial. Por ello, la expresión de ciclina D1 como predictor de buena función facial postoperatoria parece un resultado paradójico.

La expresión de ciclina D1 se asocia a la presencia de cambios degenerativos citoplasmáticos y nucleares. La relación entre la expresión de ciclina D1 y el tamaño tumoral no alcanzó la significación estadística en el análisis univariante, pero el análisis multivariante sí detectó influencia del tamaño tumoral en la expresión de ciclina D1.

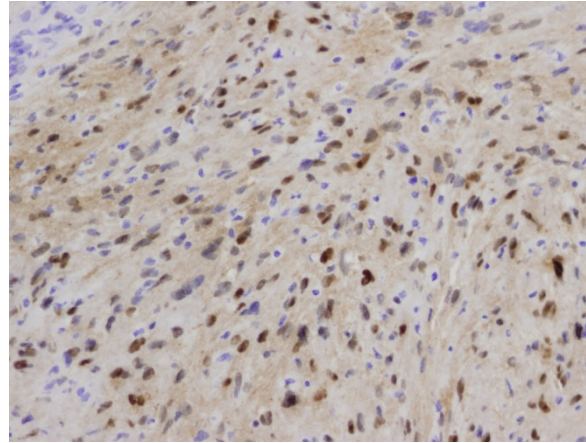


Foto 30. Preparación histológica que muestra la presencia de numerosos núcleos con tinción inmunohistoquímica positiva para ciclina D1 que presentan asimismo cambios degenerativos.

Así pues, por una parte, la expresión de ciclina D1, el mayor tamaño tumoral, y los factores anatomopatológicos que indican degeneración celular se asocian entre sí. Parece lógico que, al tratarse de un protooncogen, la ciclina D1 se asocie a estas características que posiblemente indican un mayor tiempo de evolución tumoral. Pero, por otra parte, la función facial postoperatoria se relaciona con la expresión de ciclina D1, pero no con las características anatomopatológicas del tumor. Por tanto, el mecanismo por el que la ciclina pueda influir en la función facial postoperatoria no parece tener relación con los cambios degenerativos ni con el tiempo de evolución del tumor. Tal vez la acción de la ciclina D1 en el contexto de un tumor benigno, como es el schwannoma vestibular, sea distinta a su comportamiento, mejor conocido, en tumores malignos. En cualquier caso, los mecanismos moleculares implicados en el schwannoma vestibular, como mencionamos en la introducción, están comenzando a desvelarse ahora, y el papel de la ciclina D1, que han comenzado a estudiar Atanasoski y Neff^{44,48,49}, y su compleja regulación localización celular-dependiente no están aún del todo claros.

Los tumores con expresión positiva de ciclina D1 eran con mayor frecuencia derechos. La literatura actual sobre schwannoma vestibular no ha abordado hasta hace poco el tema de la lateralidad; solía asumirse que la probabilidad de tener un tumor derecho o izquierdo era la misma. Actualmente, se está prestando mayor atención a la lateralidad del schwannoma vestibular en el contexto de la preocupación sobre la posible asociación entre schwannoma vestibular y uso de teléfono móvil, con resultados inconsistentes⁹⁷. La radiación de radiofrecuencia aumenta la expresión de genes transductores de señal mitógenos en fibroblastos de piel humana⁹⁸. Aunque la asociación entre schwannoma vestibular y algunos protooncogenes como la ciclina D1 pueden estar relacionados con la exposición a teléfonos móviles, no se ha establecido todavía una clara evidencia entre el uso de teléfonos móviles y el riesgo de desarrollar schwannoma vestibular^{43,97}.

En el análisis de regresión logística multivariante de nuestra población, en la probabilidad de obtener buen resultado facial influyen el umbral de estimulación del nervio facial $\leq 0,05$ mA al final de la cirugía, el volumen tumoral y la expresión de ciclina D1 positiva, ésta última en el límite de la significación, posiblemente por el relativamente pequeño tamaño muestral. Hay que tener en cuenta que el schwannoma vestibular es una patología poco frecuente, y por ello su tratamiento se centraliza en unos pocos equipos especializados. No obstante, es difícil encontrar estudios, salvo los multicéntricos, con un tamaño muestral grande.

La conducción facial es el factor predictivo más importante, seguido del volumen tumoral, y por último de la ciclina D1. Aunque el tamaño interactúa con la conducción facial y con la ciclina D1, el umbral de estimulación del nervio facial $<0,05$ mA al final

de la cirugía aumenta 7 veces la probabilidad de tener un buen resultado facial, independientemente del tamaño.

Las publicaciones sobre schwannoma vestibular y función facial postoperatoria coinciden en señalar, también mediante análisis de regresión multivariante, el tamaño tumoral pequeño, el umbral de estimulación del nervio facial bajo y la ausencia o corta duración de disfunción facial previa como factores pronósticos del resultado final de preservación de la función facial²⁸⁻³¹.

Al igual que nosotros, para Neff⁵⁰ el umbral de estimulación, en su caso unido a la amplitud de la respuesta electromiográfica a la estimulación, es el principal factor pronóstico. Este autor observó que, aunque el tamaño tumoral predice de forma independiente la función facial postoperatoria al año, no mejora la capacidad predictiva de la función facial postoperatoria en un modelo elaborado empleando exclusivamente el umbral de estimulación y la amplitud de la respuesta. Así, estableció, mediante análisis de regresión logística, que un umbral de estimulación menor o igual de 0,05 mA unido a una respuesta de amplitud mayor de 240 mV predice una función facial postoperatoria 1-2 de House-Brackmann con una probabilidad de 98%, mientras que el umbral de estimulación o la amplitud de la respuesta de forma aislada tienen una probabilidad mucho menor del mismo resultado⁵⁰.

En el estudio de Shamji³⁰, el tamaño pequeño y la baja estimulación intraoperatoria de <0,10 mA se afirmaron como factores predictivos de preservación funcional del nervio. La presencia de acúfeno preoperatorio, la corta duración de la hipoacusia y la falta subjetiva de adherencia del tumor al facial se correlacionaron de forma independiente con un resultado positivo. Este autor plantea en su artículo la necesidad

de buscar otros posibles factores pronósticos específicos, puesto que es frecuente para muchos otoneurocirujanos encontrarse con resultados de facial que no responden a lo esperable considerando los factores pronósticos mencionados. Concluye recomendando estudiar la fisiopatología del schwannoma vestibular a nivel molecular, intentando explicar estas sorpresas por el momento inexplicables: “Este punto merece ser mejor estudiado a nivel básico, empleando técnicas moleculares e histológicas. Con la implantación de los microarrays tisulares y el análisis proteómico, es factible analizar las diferencias moleculares entre los nervios.”

Esquia-Medina⁵⁴ concluye en su artículo que la combinación de tamaño tumoral, adherencia del tumor al nervio facial y desplazamiento del nervio por el tumor en un modelo de regresión logística eran altamente predictivos de función facial postoperatoria.

En nuestro trabajo, la ciclina D1 aumenta el área bajo la curva al incorporarla al modelo. Esto es, a igualdad de conducción facial y de volumen tumoral, la ciclina D1 positiva o negativa puede predecir el resultado facial en nuestra muestra. Es, en nuestro conocimiento, el primer modelo de predicción de resultado facial publicado hasta la fecha que incluye un factor molecular predictivo. El modelo fue validado estadísticamente. Por ello, creemos que la ciclina D1 podría ser uno de los factores moleculares implicados en la fisiopatología del schwannoma vestibular que explicaría las sorpresas que nos encontramos algunas veces tras la cirugía.

CONCLUSIONES

1. El tamaño tumoral es un factor predictivo de la función facial tras la cirugía del schwannoma vestibular. El volumen tumoral es una determinación del tamaño más precisa que el diámetro máximo, y predice mejor la función facial postoperatoria al año de la intervención quirúrgica.
2. La obtención de una respuesta electromiográfica al estimular el nervio facial en su salida del tronco del encéfalo a una intensidad menor o igual a 0,05 mA al final de la cirugía, es un factor predictivo de buena función facial postquirúrgica. El umbral de estimulación predice mejor la función facial postoperatoria inmediata que la definitiva.
3. La función facial del paciente en el postoperatorio inmediato y al alta hospitalaria son factores predictivos de la función facial al año de la cirugía. La función facial al alta predice mejor el resultado definitivo de función facial que la función facial inmediata.
4. La expresión inmunohistoquímica de ciclina D1 es un factor molecular predictivo de función facial postoperatoria definitiva. Los pacientes con tumores que expresan ciclina D1 presentan mejor función facial al año de la cirugía que aquellos cuyos schwannomas no expresan ciclina D1.
5. Un mejor umbral auditivo preoperatorio a 250, 500, 2000 y 8000 Hz predice una mejor función facial en el postoperatorio inmediato.

6. En el modelo multivariante, el umbral de estimulación del nervio facial en su salida del tronco del encéfalo al final de la intervención, el volumen tumoral y la expresión inmunohistoquímica de ciclina D1 del tumor son factores predictivos de función facial postoperatoria definitiva. A igualdad de conducción facial y de volumen tumoral, la expresión inmunohistoquímica positiva o negativa de ciclina D1 puede predecir el resultado facial final.

ANEXOS

Anexo I

Según la US Agency for Health Research and Quality:

Nivel de evidencia

- **Ia:** La evidencia proviene de meta-análisis de ensayos controlados, aleatorizados, bien diseñados.
- **Ib:** La evidencia proviene de, al menos, un ensayo controlado aleatorizado.
- **Ila:** La evidencia proviene de, al menos, un estudio controlado bien diseñado sin aleatorizar.
- **Ilb:** La evidencia proviene de, al menos, un estudio no completamente experimental, bien diseñado, como los estudios de cohortes. Se refiere a la situación en la que la aplicación de una intervención está fuera del control de los investigadores, pero su efecto puede evaluarse.
- **III:** La evidencia proviene de estudios descriptivos no experimentales bien diseñados, como los estudios comparativos, estudios de correlación o estudios de casos y controles.
- **IV:** La evidencia proviene de documentos u opiniones de comités de expertos o experiencias clínicas de autoridades de prestigio o los estudios de series de casos.

Anexo II

Según la US Agency for Health Research and Quality:

Grado de la Recomendación

- **A:** Basada en una categoría de evidencia I. Extremadamente recomendable.
- **B:** Basada en una categoría de evidencia II. Recomendación favorable
- **C:** Basada en una categoría de evidencia III. Recomendación favorable pero no concluyente.
- **D:** Basada en una categoría de evidencia IV. Consenso de expertos, sin evidencia adecuada de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jacob A, Robinson LL, Jr., Bortman JS, Yu L, Dodson EE, Welling DB. Nerve of origin, tumor size, hearing preservation, and facial nerve outcomes in 359 vestibular schwannoma resections at a tertiary care academic center. *Laryngoscope* 2007;117:2087-92.
2. Cardoso AC, Fernandes YB, Ramina R, Borges G. Acoustic neuroma (vestibular schwannoma): surgical results on 240 patients operated on dorsal decubitus position. *Arq Neuropsiquiatr* 2007;65:605-9.
3. Anderson TD, Loevner LA, Bigelow DC, Mirza N. Prevalence of unsuspected acoustic neuroma found by magnetic resonance imaging. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:643-6.
4. Lin D, Hegarty JL, Fischbein NJ, Jackler RK. The prevalence of "incidental" acoustic neuroma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;131:241-4.
5. Magdziarz DD, Wiet RJ, Dinces EA, Adamiec LC. Normal audiologic presentations in patients with acoustic neuroma: An evaluation using strict audiologic parameters. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;122:157-62.
6. del Rio L, Lassaletta L, Alfonso C, Sarria MJ, Gavilan J. Disociación clínica-tamaño tumoral en el neurinoma del VIII par: ¿realidad o problema de medida? *Acta Otorrinolaringol Esp* 2006;57:345-9.
7. Harner SG, Fabry DA, Beatty CW. Audiometric findings in patients with acoustic neuroma. *Am J Otol* 2000;21:405-11.

8. Berg HM, Cohen NL, Hammerschlag PE, Waltzman SB. Acoustic neuroma presenting as sudden hearing loss with recovery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;94:15-22.
9. Matthies C, Samii M. Management of 1000 vestibular schwannomas (acoustic neuromas): clinical presentation. *Neurosurgery* 1997;40:1-9; discussion -10.
10. Moffat DA, Baguley DM, von Blumenthal H, Irving RM, Hardy DG. Sudden deafness in vestibular schwannoma. *J Laryngol Otol* 1994;108:116-9.
11. Ogawa K, Kanzaki J, Ogawa S, Tsuchihashi N, Inoue Y. Acoustic neuromas presenting as sudden hearing loss. *Acta Otolaryngol Suppl* 1991;487:138-43.
12. Sauvaget E, Kici S, Kania R, Herman P, Tran Ba Huy P. Sudden sensorineural hearing loss as a revealing symptom of vestibular schwannoma. *Acta Otolaryngol* 2005;125:592-5.
13. Andersson G, Ekvall L, Kinnefors A, Nyberg G, Rask-Andersen H. Evaluation of quality of life and symptoms after translabyrinthine acoustic neuroma surgery. *Am J Otol* 1997;18:421-6.
14. Baguley DM, Humphriss RL, Axon PR, Moffat DA. Change in tinnitus handicap after translabyrinthine vestibular schwannoma excision. *Otol Neurotol* 2005;26:1061-3.
15. Berliner KI, Shelton C, Hitselberger WE, Luxford WM. Acoustic tumors: effect of surgical removal on tinnitus. *Am J Otol* 1992;13:13-7.
16. Levo H, Blomstedt G, Pyykko I. Tinnitus and vestibular schwannoma surgery. *Acta Otolaryngol Suppl* 2000;543:28-9.
17. Moller AR. Pathophysiology of tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am* 2003;36:249-66, v-vi.

18. Myrseth E, Moller P, Wentzel-Larsen T, Goplen F, Lund-Johansen M. Untreated vestibular schwannomas: vertigo is a powerful predictor for health-related quality of life. *Neurosurgery* 2006;59:67-76; discussion 67-76.
19. Gil-Carcedo LM, Vallejo LA, Gil-Carcedo E. Síndromes vestibulares periféricos retrolaberínticos. En: Gil-Carcedo LM, Vallejo LA, Gil-Carcedo E, editors. *Otología*. 2ª edición ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2004. p. 370-75.
20. Lustig LR, Rifkin S, Jackler RK, Pitts LH. Acoustic neuromas presenting with normal or symmetrical hearing: factors associated with diagnosis and outcome. *Am J Otol* 1998;19:212-8.
21. Sheppard IJ, Milford CA, Anslow P. MRI in the detection of acoustic neuromas--a suggested protocol for screening. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1996;21:301-4.
22. Michaels L, Hellquist HB. Neoplasms of the inner ear. En: Michaels L, Hellquist HB, editors. *Ear, nose and throat histopathology*. London: Springer-Verlag; 1987. p. 128.
23. Kondziolka D, Nathoo N, Flickinger JC, Niranjan A, Maitz AH, Lunsford LD. Long-term results after radiosurgery for benign intracranial tumors. *Neurosurgery* 2003;53:815-21; discussion 21-2.
24. Pollock BE, Driscoll CL, Foote RL, Link MJ, Gorman DA, Bauch CD, Mandrekar JN, Krecke KN, Johnson CH. Patient outcomes after vestibular schwannoma management: a prospective comparison of microsurgical resection and stereotactic radiosurgery. *Neurosurgery* 2006;59:77-85; discussion 77-85.
25. Pollock BE. Vestibular schwannoma management: an evidence-based comparison of stereotactic radiosurgery and microsurgical resection. *Prog Neurol Surg* 2008;21:222-7.

26. Cairns H. Acoustic neurinoma of the right cerebellopontine angle. Complete removal. Spontaneous recovery from post-operative facial palsy. *Proc R Soc Med* 1931;25:7-12.
27. Fagan PA, Sheehy JP, Chang P, Doust BD, Coakley D, Atlas MD. The cerebellopontine angle: does the translabyrinthine approach give adequate access? *Laryngoscope* 1998;108:679-82.
28. Fenton JE, Chin RY, Fagan PA, Sterkers O, Sterkers JM. Predictive factors of long-term facial nerve function after vestibular schwannoma surgery. *Otol Neurotol* 2002;23:388-92.
29. Hardy DG, Macfarlane R, Baguley D, Moffat DA. Surgery for acoustic neurinoma. An analysis of 100 translabyrinthine operations. *J Neurosurg* 1989;71:799-804.
30. Shamji MF, Schramm DR, Benoit BG. Clinical predictors of facial nerve outcome after translabyrinthine resection of acoustic neuromas. *Clin Invest Med* 2007;30:E233-9.
31. Tos M, Thomsen J. Preservation and reconstruction of the facial nerve after translabyrinthine removal of 200 acoustic neuromas. *Adv Otorhinolaryngol* 1984;34:176-86.
32. Rouleau GA, Merel P, Lutchman M, Sanson M, Zucman J, Marineau C, Hoang-Xuan K, Demczuk S, Desmaze C, Plougastel B, et al. Alteration in a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neuro-fibromatosis type 2. *Nature* 1993;363:515-21.
33. Trofatter JA, MacCollin MM, Rutter JL, Murrell JR, Duyao MP, Parry DM, Eldridge R, Kley N, Menon AG, Pulaski K, et al. A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell* 1993;75:826.

34. Neff BA, Welling DB, Akhmametyeva E, Chang LS. The molecular biology of vestibular schwannomas: dissecting the pathogenic process at the molecular level. *Otol Neurotol* 2006;27:197-208.
35. Kino T, Takeshima H, Nakao M, Nishi T, Yamamoto K, Kimura T, Saito Y, Kochi M, Kuratsu J, Saya H, Ushio Y. Identification of the cis-acting region in the NF2 gene promoter as a potential target for mutation and methylation-dependent silencing in schwannoma. *Genes Cells* 2001;6:441-54.
36. Welling DB, Lasak JM, Akhmametyeva E, Ghaheri B, Chang LS. cDNA microarray analysis of vestibular schwannomas. *Otol Neurotol* 2002;23:736-48.
37. Bello MJ, Martinez-Glez V, Franco-Hernandez C, Pefla-Granero C, de Campos JM, Isla A, Lassaletta L, Vaquero J, Rey JA. DNA methylation pattern in 16 tumor-related genes in schwannomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2007;172:84-6.
38. Lassaletta L, Bello MJ, Del Rio L, Alfonso C, Roda JM, Rey JA, Gavilan J. DNA methylation of multiple genes in vestibular schwannoma: Relationship with clinical and radiological findings. *Otol Neurotol* 2006;27:1180-5.
39. Lassaletta L, Patron M, Gonzalez T, Martinez-Glez V, Rey JA, Gavilan J. RASSF1A methylation and cyclin D1 expression in vestibular schwannomas. *Acta Neuropathol* 2007;114:431-3.
40. Shivakumar L, Minna J, Sakamaki T, Pestell R, White MA. The RASSF1A tumor suppressor blocks cell cycle progression and inhibits cyclin D1 accumulation. *Mol Cell Biol* 2002;22:4309-18.
41. Whang YM, Kim YH, Kim JS, Yoo YD. RASSF1A suppresses the c-Jun-NH2-kinase pathway and inhibits cell cycle progression. *Cancer Res* 2005;65:3682-90.

42. Pizzi S, Azzoni C, Bottarelli L, Campanini N, D'Adda T, Pasquali C, Rossi G, Rindi G, Bordi C. RASSF1A promoter methylation and 3p21.3 loss of heterozygosity are features of foregut, but not midgut and hindgut, malignant endocrine tumours. *J Pathol* 2005;206:409-16.
43. Lassaletta L, Patron M, Del Rio L, Alfonso C, Roda JM, Rey JA, Gavilan J. Cyclin D1 expression and histopathologic features in vestibular schwannomas. *Otol Neurotol* 2007;28:939-41.
44. Neff BA, Oberstien E, Lorenz M, Chaudhury AR, Welling DB, Chang LS. Cyclin D(1) and D(3) expression in vestibular schwannomas. *Laryngoscope* 2006;116:423-6.
45. Donnellan R, Chetty R. Cyclin D1 and human neoplasia. *Mol Pathol* 1998;51:1-7.
46. Arts HA, Telian SA, El-Kashlan H, Thompson BG. Hearing preservation and facial nerve outcomes in vestibular schwannoma surgery: results using the middle cranial fossa approach. *Otol Neurotol* 2006;27:234-41.
47. Samii M, Gerganov V, Samii A. Improved preservation of hearing and facial nerve function in vestibular schwannoma surgery via the retrosigmoid approach in a series of 200 patients. *J Neurosurg* 2006;105:527-35.
48. Atanasoski S, Boentert M, De Ventura L, Pohl H, Baranek C, Beier K, Young P, Barbacid M, Suter U. Postnatal Schwann cell proliferation but not myelination is strictly and uniquely dependent on cyclin-dependent kinase 4 (cdk4). *Mol Cell Neurosci* 2008;37:519-27.
49. Atanasoski S, Shumas S, Dickson C, Scherer SS, Suter U. Differential cyclin D1 requirements of proliferating Schwann cells during development and after injury. *Mol Cell Neurosci* 2001;18:581-92.

50. Neff BA, Ting J, Dickinson SL, Welling DB. Facial nerve monitoring parameters as a predictor of postoperative facial nerve outcomes after vestibular schwannoma resection. *Otol Neurotol* 2005;26:728-32.
51. House JW, Brackmann DE. Facial nerve grading system. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985;93:146-7.
52. Caye-Thomasen P, Werther K, Nalla A, Bog-Hansen TC, Nielsen HJ, Stangerup SE, Thomsen J. VEGF and VEGF receptor-1 concentration in vestibular schwannoma homogenates correlates to tumor growth rate. *Otol Neurotol* 2005;26:98-101.
53. Vrabec JT, Backous DD, Djalilian HR, Gidley PW, Leonetti JP, Marzo SJ, Morrison D, Ng M, Ramsey MJ, Schaitkin BM, Smouha E, Toh EH, Wax MK, Williamson RA, Smith EO. Facial Nerve Grading System 2.0. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;140:445-50.
54. Esquia-Medina GN, Grayeli AB, Ferrary E, Tubach F, Bernat I, Zhang Z, Bianchi C, Kalamarides M, Sterkers O. Do facial nerve displacement pattern and tumor adhesion influence the facial nerve outcome in vestibular schwannoma surgery? *Otol Neurotol* 2009;30:392-7.
55. Ebersold MJ, Harner SG, Beatty CW, Harper CM, Jr., Quast LM. Current results of the retrosigmoid approach to acoustic neurinoma. *J Neurosurg* 1992;76:901-9.
56. Ojemann RG. Retrosigmoid approach to acoustic neuroma (vestibular schwannoma). *Neurosurgery* 2001;48:553-8.
57. Samii M, Matthies C. Management of 1000 vestibular schwannomas (acoustic neuromas): surgical management and results with an emphasis on complications and how to avoid them. *Neurosurgery* 1997;40:11-21; discussion -3.

58. Siqueira JM, Souza OG. Preservation of the facial nerve in large acoustic neuromas using the combined translabyrinthine-suboccipital approach. *Arq Bras Neurocirurg* 1992;11:77-80.
59. Wiegand DA, Fickel V. Acoustic neuroma--the patient's perspective: subjective assessment of symptoms, diagnosis, therapy, and outcome in 541 patients. *Laryngoscope* 1989;99:179-87.
60. Alfonso C, Lassaletta L, Sarria J, Gavilan J. Calidad de vida tras la cirugía del schwannoma vestibular. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2007;58:61-5.
61. Lassaletta L, Alfonso C, Del Rio L, Roda JM, Gavilan J. Impact of facial dysfunction on quality of life after vestibular schwannoma surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:694-8.
62. Gjuric M, Mitrecic MZ, Greess H, Berg M. Vestibular schwannoma volume as a predictor of hearing outcome after surgery. *Otol Neurotol* 2007;28:822-7.
63. Tos M, Thomsen J, Harmsen A. Results of translabyrinthine removal of 300 acoustic neuromas related to tumour size. *Acta Otolaryngol Suppl* 1988;452:38-51.
64. Isaacson B, Telian SA, El-Kashlan HK. Facial nerve outcomes in middle cranial fossa vs translabyrinthine approaches. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;133:906-10.
65. Grayeli AB, Guindi S, Kalamarides M, El Gareem H, Smail M, Rey A, Sterkers O. Four-channel electromyography of the facial nerve in vestibular schwannoma surgery: sensitivity and prognostic value for short-term facial function outcome. *Otol Neurotol* 2005;26:114-20.
66. Alao JP, Gamble SC, Stavropoulou AV, Pomeranz KM, Lam EW, Coombes RC, Vigushin DM. The cyclin D1 proto-oncogene is sequestered in the cytoplasm of mammalian cancer cell lines. *Mol Cancer* 2006;5:7.

67. Baldin V, Lukas J, Marcote MJ, Pagano M, Draetta G. Cyclin D1 is a nuclear protein required for cell cycle progression in G1. *Genes Dev* 1993;7:812-21.
68. Blain SW. Switching cyclin D-Cdk4 kinase activity on and off. *Cell Cycle* 2008;7:892-8.
69. Liu P, Slater DM, Lenburg M, Nevis K, Cook JG, Vaziri C. Replication licensing promotes cyclin D1 expression and G1 progression in untransformed human cells. *Cell Cycle* 2009;8:125-36.
70. Wang Z, Xie Y, Zhang L, Zhang H, An X, Wang T, Meng A. Migratory localization of cyclin D2-Cdk4 complex suggests a spatial regulation of the G1-S transition. *Cell Struct Funct* 2008;33:171-83.
71. Xiao GH, Gallagher R, Shetler J, Skele K, Altomare DA, Pestell RG, Jhanwar S, Testa JR. The NF2 tumor suppressor gene product, merlin, inhibits cell proliferation and cell cycle progression by repressing cyclin D1 expression. *Mol Cell Biol* 2005;25:2384-94.
72. Xie DX, Yao J, Zhang P, Li XL, Feng YD, Wu JH, Tao DD, Hu JB, Gong JP. Are progenitor cells pre-programmed for sequential cell cycles not requiring cyclins D and E and activation of Cdk2? *Cell Prolif* 2008;41:265-78.
73. Bryja V, Pachernik J, Vondracek J, Soucek K, Cajanek L, Horvath V, Holubcova Z, Dvorak P, Hampl A. Lineage specific composition of cyclin D-CDK4/CDK6-p27 complexes reveals distinct functions of CDK4, CDK6 and individual D-type cyclins in differentiating cells of embryonic origin. *Cell Prolif* 2008;41:875-93.
74. Kim HA, Pomeroy SL, Whoriskey W, Pawlitzky I, Benowitz LI, Sicinski P, Stiles CD, Roberts TM. A developmentally regulated switch directs regenerative growth of Schwann cells through cyclin D1. *Neuron* 2000;26:405-16.

75. Kim HA, Ratner N, Roberts TM, Stiles CD. Schwann cell proliferative responses to cAMP and Nf1 are mediated by cyclin D1. *J Neurosci* 2001;21:1110-6.
76. Fuentealba L, Schworer C, Schroering A, Rahmatullah M, Carey DJ. Heregulin and forskolin-induced cyclin D3 expression in Schwann cells: role of a CCAAT promoter element and CCAAT enhancer binding protein. *Glia* 2004;45:238-48.
77. Rahmatullah M, Schroering A, Rothblum K, Stahl RC, Urban B, Carey DJ. Synergistic regulation of Schwann cell proliferation by heregulin and forskolin. *Mol Cell Biol* 1998;18:6245-52.
78. Schworer CM, Masker KK, Wood GC, Carey DJ. Microarray analysis of gene expression in proliferating Schwann cells: synergistic response of a specific subset of genes to the mitogenic action of heregulin plus forskolin. *J Neurosci Res* 2003;73:456-64.
79. Tashiro E, Tsuchiya A, Imoto M. Functions of cyclin D1 as an oncogene and regulation of cyclin D1 expression. *Cancer Sci* 2007;98:629-35.
80. Parra ER, Park JY, Saito DM, Takagaki TY, Rodrigues OR, Capelozzi VL. Prognostic index expression of cyclin-D1, cerbB-2 and VEGF: metastases vs corresponding primary cancers and metastatic vs non-metastatic adenocarcinomas. *Histol Histopathol* 2008;23:987-93.
81. Nemtsova MN, Pal'tseva EM, Babaian A, Mikhailenko DS, Babenko OV, Samofalova O, Tsar'kov PV, Zaletaev DV. Molecular-genetic analysis of clonal intratumoral heterogeneity on colorectal adenocarcinomas. *Mol Biol (Mosk)* 2008;42:1040-7.
82. Olshavsky NA, Groh EM, Comstock CE, Morey LM, Wang Y, Revelo MP, Burd C, Meller J, Knudsen KE. Cyclin D3 action in androgen receptor regulation and prostate cancer. *Oncogene* 2008;27:3111-21.

83. van Dekken H, Hop WC, Tilanus HW, Haringsma J, van der Valk H, Wink JC, Vissers KJ. Immunohistochemical evaluation of a panel of tumor cell markers during malignant progression in Barrett esophagus. *Am J Clin Pathol* 2008;130:745-53.
84. Ashton KA, Proietto A, Otton G, Symonds I, McEvoy M, Attia J, Gilbert M, Hamann U, Scott RJ. The influence of the Cyclin D1 870 G>A polymorphism as an endometrial cancer risk factor. *BMC Cancer* 2008;8:272.
85. Han SS, No JH, Jeon YT, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. Association of cyclin D1 G870A polymorphism with uterine leiomyoma in women whose body mass index values are above 25 kg/m². *Hum Reprod* 2008;23:525-9.
86. Liu H, Huang J, Wang J, Jiang S, Bailey AS, Goldman DC, Welcker M, Bedell V, Slovak ML, Clurman B, Thayer M, Fleming WH, Epner E. Transvection mediated by the translocated cyclin D1 locus in mantle cell lymphoma. *J Exp Med* 2008;205:1843-58.
87. Brustmann H. Epidermal growth factor receptor expression in serous ovarian carcinoma: an immunohistochemical study with galectin-3 and cyclin D1 and outcome. *Int J Gynecol Pathol* 2008;27:380-9.
88. Wiech T, Nikolopoulos E, Lassman S, Heidt T, Schopflin A, Sarbia M, Werner M, Shimizu Y, Sakka E, Ooka T, zur Hausen A. Cyclin D1 expression is induced by viral BARF1 and is overexpressed in EBV-associated gastric cancer. *Virchows Arch* 2008;452:621-7.
89. Molenaar JJ, Ebus ME, Koster J, van Sluis P, van Noesel CJ, Versteeg R, Caron HN. Cyclin D1 and CDK4 activity contribute to the undifferentiated phenotype in neuroblastoma. *Cancer Res* 2008;68:2599-609.

90. Muller-Hocker J, Babaryka G, Schmid I, Jung A. Overexpression of cyclin D1, D3, and p21 in an infantile renal carcinoma with Xp11.2 TFE3-gene fusion. *Pathol Res Pract* 2008;204:589-97.
91. Catarino R, Pereira D, Breda E, Coelho A, Matos A, Lopes C, Medeiros R. Oncogenic virus-associated neoplasia: a role for cyclin D1 genotypes influencing the age of onset of disease? *Biochem Biophys Res Commun* 2008;370:118-22.
92. Elsheikh S, Green AR, Aleskandarany MA, Grainge M, Paish CE, Lambros MB, Reis-Filho JS, Ellis IO. CCND1 amplification and cyclin D1 expression in breast cancer and their relation with proteomic subgroups and patient outcome. *Breast Cancer Res Treat* 2008;109:325-35.
93. Aoyagi S, Akiyama M, Shimizu H. High expression of Ki-67 and cyclin D1 in invasive extramammary Paget's disease. *J Dermatol Sci* 2008;50:177-84.
94. Fiaschi-Taesch N, Bigatel TA, Sicari B, Takane KK, Salim F, Velazquez-Garcia S, Harb G, Selk K, Cozar-Castellano I, Stewart AF. Survey of the human pancreatic beta-cell G1/S proteome reveals a potential therapeutic role for cdk-6 and cyclin D1 in enhancing human beta-cell replication and function in vivo. *Diabetes* 2009;58:882-93.
95. Mueller CM, Zhang H, Zenilman ME. Pancreatic reg I binds MKP-1 and regulates cyclin D in pancreatic-derived cells. *J Surg Res* 2008;150:137-43.
96. Lyman RC, Wilson ML, Herrington CS. Cell-cycle control protein expression is disrupted in anogenital condylomata infected with low-risk human papillomavirus types. *J Low Genit Tract Dis* 2008;12:224-31.

97. Christensen HC, Schuz J, Kosteljanetz M, Poulsen HS, Thomsen J, Johansen C. Cellular telephone use and risk of acoustic neuroma. *Am J Epidemiol* 2004;159:277-83.
98. Pacini S, Ruggiero M, Sardi I, Aterini S, Gulisano F, Gulisano M. Exposure to global system for mobile communication (GSM) cellular phone radiofrequency alters gene expression, proliferation, and morphology of human skin fibroblasts. *Oncol Res* 2002;13:19-24.

